

5
95
97
pl. 6

~~DOES NOT CIRCULATE~~

ANNALES MEDICINAE EXPERIMENTALIS ET BIOLOGIAE FENNIAE

REDACTORES:

E. MUSTAKALLIO
(TURKU)

U. UOTILA
(HELSINKI)

ARMAS VARTIAINEN
(HELSINKI)

A. WILSKA
(HELSINKI)

A. I. VIRTANEN
(HELSINKI)

EDITOR

K. O. RENKONEN

REDIGENDOS CURAVIT
ODD WAGER

MEDICAL
LIBRARY

**PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE TOXIZITÄT UND DIE ANTAGONISTEN DER
SYNTHETISCHEN ANTIKOAGULANTIEN**

VON

EINO V. VENHO

VOL. 37

1959

SUPPLEMENTUM 6

**MERCATORIN KIRJAPAINO
HELSINKI, FINLAND**

SU

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT HELSINKI
VORSTAND: PROF. DR. MED. A. VARTIAINEN

**PHARMAKOLOGISCHE UNTER-
SUCHUNGEN ÜBER DIE TOXIZITÄT UND
DIE ANTAGONISTEN DER SYNTHETISCHEN
ANTIKOAGULANTIEN**

VON

EINO V. VENHO

HELSINKI 1959

Helsinki 1959
Mercatorin Kirjapaino

Meiner lieben Frau gewidmet

h
v
a
H
d
b
v
st
st
fü
Sp
da
de
ko
bin
He
mi
Ch
Ph

VORWORT

Die Anregung zu der vorliegenden Untersuchung hat mir der Vorstand des Pharmakologischen Instituts der Universität Helsinki, Herr Prof. Dr.med. Armas Vartiainen gegeben, der mir zugleich auch freundlicherweise die Arbeitsmöglichkeit in dem von ihm geleiteten Institut mit den erforderlichen Versuchstieren und Apparaten zur Verfügung gestellt hat. Prof. Vartiainen ist mir auf viele Weise behilflich gewesen und hat mich immer wieder zur Arbeit angespornt, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen hochachtungsvollen Dank ausspreche.

Der Vorstand der II Medizinischen Klinik der Universität Helsinki, Herr Prof. Dr. med. Ilmari Vartiainen, hat mir das in der Arbeit dargelegte klinische Material überlassen, wofür ich ihm bestens danke.

Herrn Dozent Dr. med. Matti K. Paasonen danke ich für die vielen guten Ratschläge, die er mir während meiner Untersuchungen gegeben hat.

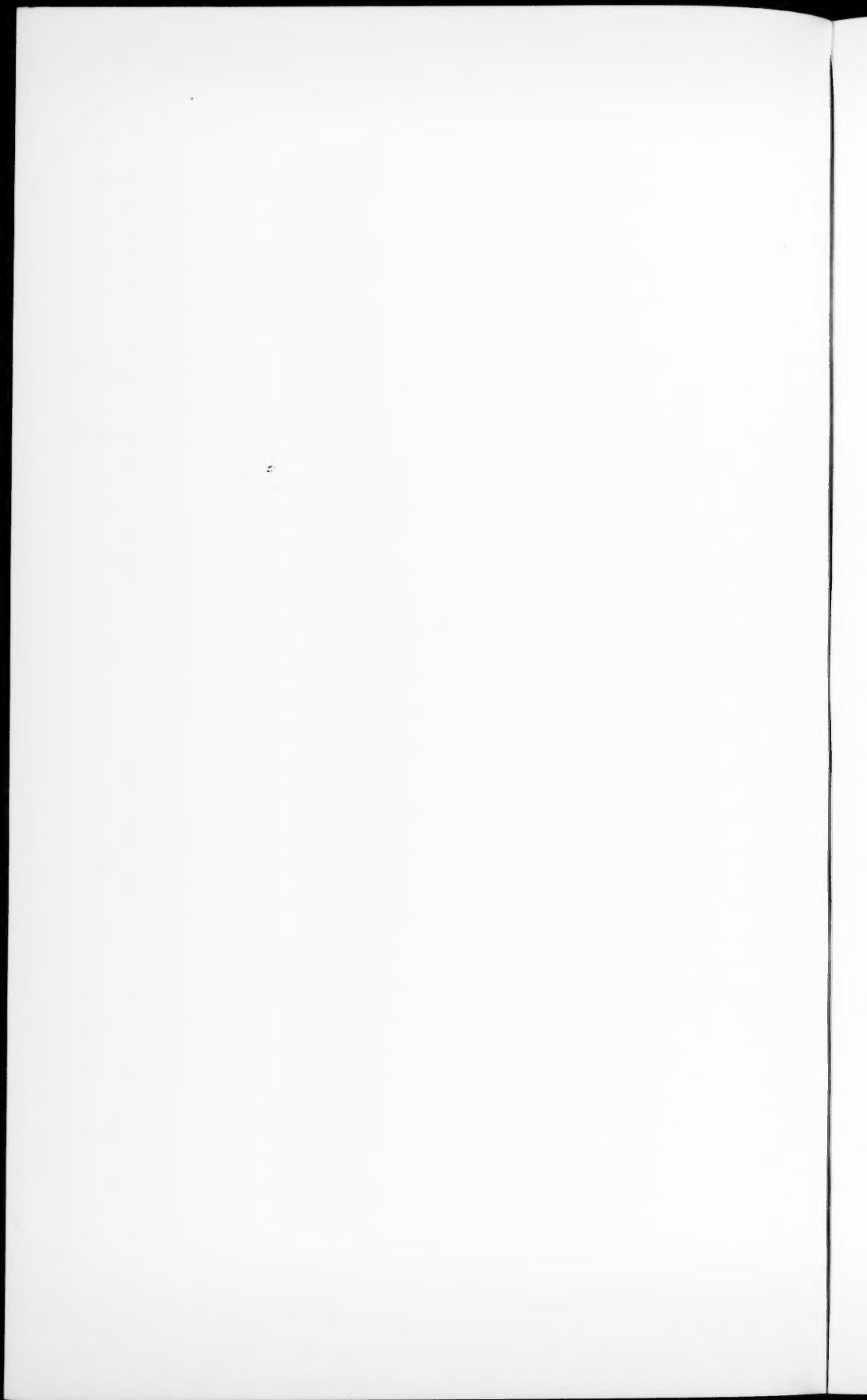
Die statistische Analyse der Versuchsergebnisse hat die Statistikerin der Medizinalverwaltung, Fräulein Liisa Salojärvi ausgeführt, und Frau Marianne Kahanpää hat den Text in die deutsche Sprache übertragen. Beiden danke ich vielmals.

Frau Kersti Lampén und Frau Raakel Malinen bin ich dankbar dafür, dass sie mir bei der Pflege der Tiere und bei der Durchführung der Versuche behilflich gewesen sind.

Für die Versuche haben mir folgende Firmen ihre Präparate kostenlos zur Verfügung gestellt, wofür ich vielen Dank schuldig bin: Arzneimittelbarik Orion, Helsinki, Arzneimittelfabrik Medica, Helsinki, Arzneimittelfabrik Star, Tampere (Finnland), Arzneimittelfabrik J. R. Geigy A.G., Basel, Abbott laboratories, North Chicago Ill., F. Hoffmann-La Roche & Co., A.G., Basel, Gerot Pharmazeutica, Wien und Merck & Co., Inc. Rahway, N.Y., U.S.A.

Helsinki, im März 1959.

Eino V. Venho



INHALTSVERZEICHNIS

VORWORT	5
I. EINLEITUNG	9
II. MATERIAL UND METHODEN	14
III. TOXIZITÄT DER SYNTHETISCHEN ANTIKOAGULANTIEN	17
1. Frühere Untersuchungen über die toxischen Wirkungen der synthetischen Antikoagulantien	17
2. Vergleich der Toxizität einiger Antikoagulantien	24
3. Verschiedenheit der Dicumarolpräparate	27
4. Einfluss des Geschlechts auf die Toxizität	31
5. Einfluss der Kastration auf die Toxizität	35
6. Einfluss der Sexualhormone auf die Toxizität	36
7. Einfluss der Gravidität auf die Dicumarolsterblichkeit	39
8. Einfluss des Alters auf die Toxizität	42
IV. ÜBER DIE ANTAGONISTEN DER SYNTHETISCHEN ANTIKOAGULANTIEN	44
1. Frühere Untersuchungen über die Antagonisten der synthetischen Antikoagulantien	44
2. Menadion als Antagonist von Dicumarol	49
3. Menadion als Antagonist von Phenylindandion	52
4. Vitamin K ₁ als Antagonist von Dicumarol	54
5. Vitamin K ₁ als Antagonist von Phenylindandion	56
6. Vitamin K ₁ -Oxyd als Antagonist von Dicumarol	58
7. Vitamin K ₁ -Oxyd als Antagonist von Phenylindandion	60
V. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND SCHLUSSFOLGERUNGEN	62
VI. ZUSAMMENFASSUNG	67
VII. SUMMARY	69
VIII. LITERATURVERZEICHNIS	71

k
d
D
er
un
ba
A

ge
vo
zu
ge
des
lan
oh
wä

nisi
the
vom
mee
lant

A
Sto
sche
Wir
Fak
koag
eben

I. EINLEITUNG

Die effektive Behandlung der thromboembolischen Erkrankungen ist noch sehr jung. Noch 1938 schrieb Unger (165), die ganze Behandlung des Thrombosezustandes sei aussichtslos. Das Heparin war zwar bereits im Jahre 1916 von Hovell (71) entdeckt worden, aber erst etwa um 1940 kam es in reiner Form und in ausreichender Menge in den Handel. Die klinische Verwendbarkeit des Heparins wird beschränkt durch die intravenöse Applikation sowie durch den immer noch sehr hohen Preis.

Bereits im Jahre 1932 hat Morawitz (115) den Gedanken ausgesprochen, dass ein Stoff gefunden werden müsste, der die Bildung von Prothrombin und möglicherweise auch Fibrinogen in der Leber zu hemmen vermöchte. Die von Link u. Mitarb. (105) durchgeführten Untersuchungen haben dann im Jahre 1940 zur Isolierung des Dicumarols geführt. Hiernach sind verschiedene Antikoagulantien synthetisiert worden, in erster Linie Cumarolderivate, ohne dass aber ein wesentlicher Fortschritt zu verzeichnen gewesen wäre.

Erfreulich ist es immerhin, dass man den Blutgerinnungsmechanismus weiter aufzuklären vermocht hat, und die Gerinnungstheorien heutzutage vollkommener sind als die klassische Theorie von Morawitz (114). Die genaue Kenntnis des Blutgerinnungsmechanismus ist die Grundlage für die Erforschung der Antikoagulantien und die Behandlung der thromboembolischen Krankheiten.

Alle heutzutage bekannten Antikoagulantien sind vom idealen Stoff noch weit entfernt. Die heute angewandten Cumarole unterscheiden sich in der Hauptsache nur in ihrer Wirkungsstärke und Wirkungsdauer, ihr Wirkungsmechanismus auf Prothrombin und Faktor VII ist aber grundsätzlich derselbe (170). Ein ideales Antikoagulans müsste folgende Bedingungen erfüllen: 1. Es müsste ebenso gut bei oraler wie auch parenteraler Verabreichung wirksam

sein. 2. Die Wirkung müsste rasch und mindestens im Verlauf einer Stunde einsetzen. 3. Das Antikoagulans müsste eine ausreichende therapeutische Breite besitzen und frei von Nebenwirkungen sein. 4. Bei fortgesetztem Gebrauch dürften sich keine kumulativen oder toxischen Wirkungen einstellen. 5. Die Wirkung müsste bei allen Patienten gleich sein, und das quantitative Verhältnis zwischen Dosis und gerinnungshemmender Wirkung müsste im Voraus berechnet werden können. 6. Tägliche Laborkontrolle zur Bestimmung der Wirkung darf nicht unerlässlich sein, sie sollte aber nach einem einfachen Verfahren am Bett und auch vom Patient selbst ausgeführt werden können. 7. Die Antikoagulationswirkung müsste rasch aufhören, wenn die Medikation abgesetzt wird, oder durch einen nicht toxischen Antagonist aufgehoben werden können. 8. Die Kosten müssten gering sein (65, 170). Kein einziges von den heutigen Antikoagulantien erfüllt diese Anforderungen auch nur annähernd.

Der praktische Arzt steht vor grossen Schwierigkeiten, wenn er einen Thrombosepatienten zu behandeln hat. Bei der Anwendung von synthetischen Antikoagulantien muss der Prothrombiningehalt des Blutes so niedrig gehalten werden, dass es zu keinen neuen Thromben kommen kann. Die effektive blutgerinnungshemmende Behandlung bringt immer die Gefahr von Blutungen mit sich. Die Blutungen sind nicht nur durch den niedrigen Prothrombiningehalt bedingt, sondern stellen den Teil eines grösseren Problems dar (133). Die Risiken der Behandlung hat man durch neue, bessere Antikoagulantien, Bestimmungsmethoden der Blutgerinnungsfaktoren und effektivere Antagonisten der Antikoagulantien herabzumindern versucht.

Immer gibt es aber Umstände, über welche die bisher bekannten Bestimmungen der Blutgerinnungsfaktoren keine Auskunft geben. Immer wieder kommen Blutungen auch dann vor, wenn die Prothrombinwerte des Blutes die empfohlene therapeutische Höhe haben. Nicht selten ist die Ursache für die Blutung irgendeine nicht diagnostizierte Gewebsläsion, wie maligne Tumoren, Ulkus oder dergleichen. Derartige Fälle dürften sich trotz aller Fortschritte der Diagnostik kaum jemals ganz vermeiden lassen. Hinzu kommen noch die Fälle, wo die Patienten auf eigene Faust und ohne Kontrolle entweder zu therapeutischen Zwecken, aus Versehen oder in Selbstmordabsicht grosse Dosen von Antikoagulantien

zu sich nehmen. Heutzutage sind Antikoagulantien auch als Rattengift im Gebrauch, was zu Vergiftungen bei Haustieren führen kann, und ausserdem sind diese Stoffe in der Hand unkundiger Personen auf viele Weise auch für den Menschen gefährlich. Für eben diese Fälle müssten uns wirksame Antagonisten der Antikoagulantien zur Verfügung stehen. Es sollte möglich sein, während der Behandlung die Gerinnungsfähigkeit des Blutes rasch auf das gewünschte Niveau zurückzubringen, ohne dass die Therapie mit synthetischen Antikoagulantien dadurch ihren Wert ganz einbüsst.

Auch wenn die Blutgerinnungsfaktoren laufend im Labor kontrolliert werden, so bekommen manche Patienten beim Gebrauch der heutigen Antikoagulantien trotzdem Blutungen, aber andererseits wird auch in den meisten Publikationen berichtet, dass bei manchen Kranken während der Behandlung neue Thromben und Embolien aufgetreten sind, die anzeigen, dass die Therapie eben doch nicht durchweg wirksam gewesen ist. Offenbar schwankte die Gerinnungsfähigkeit des Blutes von einem gefährlich niedrigen Niveau bis zu einer weit über den therapeutischen Grenzen liegenden Höhe (162). Überprüft man die publizierten Statistiken, so sieht man, dass in den neuesten fast ebensoviel Blutungen vorkommen wie in den ältesten, obschon es freilich auch ein paar kleinere Statistiken gibt, in denen nichts über Blutungen gemeldet wird. Die verfeinerten Methoden zur Bestimmung der Gerinnungsfaktoren sind nicht imstande gewesen, Blutungen während der Behandlung mit Antikoagulantien zu verhindern.

Die Häufigkeit der Blutungen lassen sich mit einigen Beispielen beleuchten. Im Jahre 1945 teilte Bruzelius (24) mit, bei prophylaktisch mit Dicumarol behandelten Patienten in 4.4% Blutungen gehabt zu haben, und bei den rein therapeutischen Fällen in 9.7%. Aggeler (2) sammelte im Jahre 1946 diesbezügliche Angaben aus der amerikanischen Literatur und stellte fest, dass unter 1471 Patienten in 8.3% Blutungen sowie 5 Todesfälle (0.34%) vorgekommen waren. Allen (3) wiederum teilte 1947 mit, dass bei 1686 postoperativen Patienten insgesamt in 5% Blutungen vorgekommen waren, und zwar in 3.1% leichtere und in 1.9% schwere. Aus der Statistik von Barker (10) aus dem Jahre 1952 geht hervor, dass bei den mit Dicumarol behandelten Patienten in 1% schwere und in 3% leichtere Blutungen vorgekommen waren, bei den mit Phenylindandion behandelten entsprechend in 1% schwere und in

5% leichtere Blutungen sowie bei den mit Thromexan behandelten entsprechend in 2% und 4%. Beaumont und Tarrit (14) teilten im Jahre 1955 mit, dass von 1500 Patienten 6.6% während der Behandlung mit Antikoagulantien Blutungen bekamen. In dem Material von Thorsen (163) vom Jahre 1957 hatten 2.5% von den Patienten schwere Blutungen und etwa 4.9% leichtere. Man sieht, dass durchschnittlich in den verschiedenen Statistiken Blutungen ungefähr bei 3—6% von den Patienten vorgekommen sind, und zwar leichtere Blutungen in etwa 2—4% und schwere in etwa 1—2%. Es hat den Anschein, dass sich dieses Blutungsrisiko bei Anwendung der heutigen Antikoagulantien nicht eliminieren lässt, weil immer effektivere Behandlung angestrebt wird, die ihrerseits diese Gefahr wieder erhöht. Ausserdem muss festgestellt werden, dass in fast allen heutigen Statistiken auch über neue thromboembolische Komplikationen während der Behandlung berichtet wird, so dass die Therapie also nicht immer durchweg wirksam gewesen sein kann. Beispielsweise in dem sorgfältig kontrollierten Material von Wright (162) vom Jahre 1952 kamen unter Berücksichtigung aller Diagnosen neue thromboembolische Komplikationen auf tausend Behandlungstage mit Thromexan in 3.5 und mit Dicumarol in 3.25 Fällen vor.

Die während der Behandlung mit Antikoagulantien auftretenden Blutungen sind offenbar nicht allein durch die ungenügende Gerinnungsfähigkeit des Blutes bedingt, sondern auch die Toxizität des gerinnungshemmenden Stoffes an sich spielt dabei eine Rolle. Bei der Haemophilie z.B. gerinnt das Blut nicht, aber dessenungeachtet haben diese Patienten keine wesentlichen Blutungen, wenn nicht ein Trauma hinzukommt. Während der Antikoagulansbehandlung im Krankenhaus sind die bettlägerigen Patienten schwerlich irgendwelchen Traumen ausgesetzt, und trotzdem bekommen sie spontane Blutungen. Man muss wohl annehmen, dass die Antikoagulantien noch auf andere Weise als durch die Hemmung des Blutgerinnungsvermögens zu Blutungen prädisponieren. In früheren Untersuchungen ist u.a. festgestellt worden, dass die Kapillarpermeabilität bei den mit Antikoagulantien behandelten Patienten herabgesetzt war, welcher Umstand offenbar beim Zustandekommen der Blutungen eine erhebliche Rolle spielt (41, 95, 118, 119). Tawfic (159) hat in heissen Zonen bei den mit Phenyldandion behandelten Kranken eine gesteigerte Blutungs-

neigung beobachtet. Diese erhöhte Blutungsneigung wird durch Dilatation der peripheren Gefässe zufolge des heissen Wetters und Bluteindickung, welche einen erhöhten Blutspiegel des Medikamentes und damit eine Reduktion des Prothrombinpotentials bedingt, verursacht. Im allgemeinen ist bei den Untersuchungen aber den toxischen Eigenschaften der Antikoagulantien überhaupt und den damit verknüpften Faktoren ziemlich wenig Beachtung geschenkt worden.

In der vorliegenden Untersuchung habe ich versucht, einige mit der Toxizität der synthetischen Antikoagulantien verknüpfte Fragen näher aufzuklären, wobei als Untersuchungsobjekt Dicumarol und Phenylindandion dienten. Das Dicumarol wurde deswegen gewählt, weil es den Prototyp dieser Stoffe darstellt, und das Phenylindandion deswegen, weil es hinsichtlich seiner chemischen Struktur recht weitgehend vom Dicumarol abweicht, und weil ferner in der Literatur Zweifel darüber vorgebracht worden sind, ob die Vitamin K-Präparate überhaupt antagonistisch auf das Phenylindandion einwirken.

Bei den früheren Untersuchungen hat man im allgemeinen aufzuklären versucht, wie die Antagonisten der synthetischen Antikoagulantien das durch die therapeutischen Dosen herabgesetzte Prothrombin wieder auf die Norm zu bringen vermochten. Ich habe bei meinen Tierversuchen so grosse Einzeldosen verabreicht, dass sie zu Todesfällen führten, und habe untersucht, ob die als Antagonisten der synthetischen Antikoagulantien empfohlenen Vitamin K-Präparate solche Todesfälle zu verhindern vermochten. Dies entspricht der Situation bei versehentlichen Vergiftungen, Selbstmordversuchen u. dergl. Wenn man in solchen Fällen die Antikoagulansvergiftung zu beheben vermag, so dürften auch die in der klinischen Praxis vorkommenden Komplikationen zu beherrschen sein.

II. MATERIAL UND METHODEN

PRÄPARATE

Die bei den Versuchen angewandten Antikoagulantien und Vitamin K-Präparate, die aus dem nachfolgenden Verzeichnis hervorgehen, sind von verschiedenen Arzneimittelfabriken kostenlos zur Verfügung gestellt worden. Die Fabriken haben die betreffenden Substanzen selbst kontrolliert, so dass eine erneute Überprüfung nicht für notwendig erachtet wurde. Hinsichtlich der Namen der Stoffe herrscht im Schrifttum das bunteste Durcheinander, weil nicht alle offizielle Bezeichnungen haben. Im Text sind die eingetragenen Warenzeichen als Namen angewandt worden, weil die chemischen Bezeichnungen zu lang und umständlich sind.

Dicumarol, 3,3'-Methylen-bis-(4-Oxy-Cumarin), Arzneimittelfabrik Medica, Helsinki.

Phenylindandion, 2-Phenylindandion-(1,3), Arzneimittelfabrik Star, Tampere, Finnland.

Thromexan, Wz., Bis-3,3'-(4-Oxy-Cumarinyl)-Essigsäureäthyl-Ester, Arzneimittelfabrik J. R. Geigy A.G., Basel.

Thrombaton, Wz., 3,3'-Äthyliden-bis-(4-Oxy-Cumarin), Gerot, Pharmazeutica, Wien.

Cyclocumarol, 3,4-(2'-Methyl-2'-Methoxy-4'-Phenyl)-Dihydropyranocumarin, Abbott Laboratories, North Chicago, Ill.

Marcoumar, Wz., 3-(1'-Phenylpropyl)-4-Oxy-Cumarin, F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G., Basel.

Menadion, Vitamin K₄, 2-Methyl-1,4-Naphthochinon, Arzneimittelfabrik, Orion, Helsinki.

Vitamin K₁, Phyllochinon, 2-Methyl-3-Phytyl-1,4-Naphthochinon, sowie

Vitamin K₁-Oxyd, 2-Methyl-3-Phytyl-1,4-Naphthochinon-2,3-Oxyd, Merck & Co., Inc. Rahway, N.Y., U.S.A.

Allen den obengenannten Firmen spreche ich meinen besten Dank für die mir überlassenen Stoffe sowie für den Literaturdienst aus. Die übrigen Medikamente, die in der Untersuchung erwähnt werden, sind handelsübliche Präparate.

VERSUCHSTIERE

Als Versuchstier diente die weisse Maus, weil sie für derartige Versuche die geeignete Empfindlichkeit hat, und weil sie in genügender Menge und mit angemessenen Kosten zu beschaffen war. Die bei den Versuchen benutzten Mäuse gehörten zum gleichen Stamm und kamen vom gleichen Züchter aus Schweden. Für die Versuche wurden auch einheimische Mäuse benutzt. Das Gewicht der Tiere variierte im allgemeinen zwischen 24 und 30 g, und unter 22 g wiegende wurden keine benutzt, mit Ausnahme von Jungmäusen, die besonders erwähnt werden.

DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE

Die zu untersuchenden Stoffe wurden den Mäusen als feinverteilte Olivenölsuspensionen appliziert, deren Antikoagulansgehalt je nach dem zu verabreichenden Stoff etwa 50—100 mg/ml betrug. Das Volumen der injizierten Suspension wurde zwischen 0.1—0.3 ml gehalten, welche Menge mit einer Tuberkulinspritze unter die Rückenhaut injiziert oder nach der Methode von Behrens (15) mit einer Kanüle in den Magen eingeführt wurde. Die Ölsuspension wurde in einem kleinen Mörser hergestellt, wo sie vor dem Aufsaugen in die Spritze gut vermischt werden konnte. Wenn gleichzeitig Antikoagulans und dessen Antagonist verabreicht werden sollten, wurde die Suspension so hergestellt, dass sie beide Substanzen im gewünschten Verhältnis enthielt. Es brauchte dann nur einmal gespritzt zu werden, was natürlich besser ist, weil bei jeder Injektion kleine Traumen entstehen können, selbst wenn der Stoff mit einer Kanüle in den Magen gegeben wird.

Jede Maus wurde 10 Tage nach der Applikation des Präparates für sich in einem Glas gehalten, während welcher Zeit alle eventuellen Todesfälle eintraten. Jede tote Maus wurde obduziert und daraufhin untersucht, ob makroskopisch Blutungen im Gedärm oder im Bereich des Thorax wahrzunehmen waren.

STATISTISCHE BEHANDLUNG

Bei der Analysierung der Beobachtungen wurde der χ^2 (chi square)-Test angewandt, zu dem noch die Kontinuitätskorrektion (Yates' correction) hinzugefügt wurde. Die Formel lautet

$$\chi_y^2 = \sum \frac{(|f - f_c| - \frac{1}{2})^2}{f_c}$$

worin f = beobachtete Werte und

f_c = erwartete Werte sind.

Die den χ^2 -Werten entsprechenden Wahrscheinlichkeitswerte (P) erhält man aus der Tabelle der χ^2 -Verteilung, worin die Freiheitsgrade (f) 1 sind.

Der *P*-Wert zeigt an, ob der Unterschied zwischen den beobachteten und den erwarteten Werten zufallsbedingt ist, oder ob zwischen ihnen eine tatsächliche Differenz besteht.

P -Wert 0.001 (mit 0.1% Risiko) = der Unterschied ist sehr signifikant

0.01	(»	1%	») = »	»	»	signifikant
0.05	(»	5%	») = »	»	»	fast signifi- kant

In denjenigen Fällen, wo die Substanz in mehreren, verschieden grossen Dosen gegeben worden ist, wird für jede Dosis χ^2 berechnet.

Beispielsweise beim Testen der Einwirkung von Menadion auf die Dicumarolsterblichkeit wird also χ^2 für jede Dosis berechnet, und die so erhaltenen χ^2 -Werte werden zusammengezählt, woraus sich χ^2 der ganzen Gruppe ergibt.

Die Zahl der Freiheitsgrade der vereinigten χ^2 -Werte ist die Zahl der zusammenzuzählenden Werte.

Die χ^2 -Zahlen werden nur dann direkt vereinigt, wenn bei den verschiedenen Dosen der Antagonist in gleicher Richtung wirkt, z.B. stets sterblichkeitsvermindernd. In den anderen Fällen wird folgendermassen verfahren:

$$\mu = \frac{\sum \chi_i}{\sqrt{k}}$$

k = Anzahl der χ -Zahlen und der entsprechende P -Wert wird aus der Tabelle der t -Verteilung erhalten.

III. TOXIZITÄT DER SYNTHETISCHEN ANTI-KOAGULANTIEN

1. FRÜHERE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TOXISCHEN WIRKUNGEN DER SYNTHETISCHEN ANTIKOAGULANTIEN

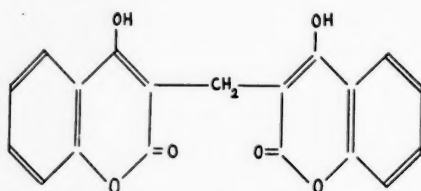
Soweit man weiss, haben die Antikoagulantien abgesehen von ihren blutgerinnungshemmenden Eigenschaften keine wesentlichen pharmakologischen Wirkungen. Es hat den Anschein, dass ihre anderen pharmakologischen Eigenschaften auch gar nicht gründlich aufzuklären versucht worden sind. Zum Teil dürfte dies darauf zurückzuführen sein, dass die synthetischen Antikoagulantien schwerlösliche Stoffe sind, und auch wenn sie in Alkalien gelöst werden können, so sind sie hinsichtlich p_{H} und sonstiger Eigenschaften so unphysiologisch, dass eine Aufklärung der pharmakologischen Eigenschaften des eigentlichen Antikoagulans' schwierig ist.

Die heutzutage bekannten, allgemein gebräuchlichen Antikoagulantien sind den Patienten auch längere Zeiten hindurch, ja sogar jahrelang verabreicht worden, ohne dass im allgemeinen klinisch wesentliche toxische Wirkungen wahrzunehmen gewesen wären, abgesehen von solchen, die sekundär mit der Hemmwirkung auf die Blutgerinnung verknüpft sind. Trotzdem haben bei manchen Patienten aber schon die therapeutischen Dosen Nebenwirkungen verursacht.

Pathologisch-anatomische Untersuchungen sind an Versuchstieren durchgeführt worden, die längere Zeit hindurch Antikoagulantien bekommen haben, sowie im Zusammenhang mit Obduktionen auch bei Menschen, die an von Antikoagulantien hervorgerufenen Blutungen gestorben waren. Über die Eigenschaften der bei den Untersuchungen verwandten Antikoagulantien und die früheren Forschungen wird jeweils an der betreffenden Stelle berichtet.

Dicumarol

Die Voraussetzungen für die Entdeckung des Dicumarols schufen die Beobachtungen von Schofield (148) über die bei Rindern vorkommende Haemophilie »sweet clover disease«, welche Krankheit von Roderik noch eingehender untersucht worden ist (137, 138, 139). Die Blutanalysen ergaben nur eine herabgesetzte Prothrombinkonzentration (131, 132). Die Reindarstellung der Substanz aus dem verfaulten Süssklee ist ein Verdienst von Campbell, Roberts, Smith und Link (28, 29, 30). Es stellte sich heraus, dass es sich um 3,3'-Methylen-bis-(4-Oxy-Cumarin) handelte, das schon im Jahre 1902 synthetisiert worden war, dessen Einfluss auf die Blutgerinnung damals aber noch unbekannt war.



3,3'-Methylen-bis-(4-Oxy-Cumarin).

Das Dicumarol ist ein weisses oder gelblichweisses, feinkristallines Pulver. Der Stoff löst sich schwer in Wasser, bildet aber mit starken Alkalien lösliche Salze; der p_{H1} -Wert der Lösungen liegt etwa bei 8.

Die Wirkung des Dicumarols ist bei Tieren viel untersucht worden. Es hemmt die Entstehung von Prothrombin, Faktor VII und Faktor X in der Leber. Die das Prothrombin vermindernde Wirkung ist unabhängig davon, ob die Substanz per os oder intravenös verabreicht wird (20). Verschiedene Versuchstiere und verschiedene Personen reagieren unterschiedlich, aber beim gleichen Individuum ist in der Regel auch der Effekt gleich (123, 124, 125). Die tödlichen Einzeldosen variieren bei den verschiedenen Tieren und betragen etwa 250—300 mg pro Körpergewicht-kg. Da schon 1—2 mg/kg bei vielen Versuchstieren und beim Menschen die Prothrombinkonzentration im Blute auf den gewünschten therapeutischen Stand herabsetzt, so kann man sagen, dass das Dicumarol eine beträchtliche therapeutische Breite besitzt, sofern man nicht die Gefahr der durch die gerinnungshemmende Wirkung

hervorgerufenen Blutungen in Betracht zieht (123, 124, 140, 147, 166).

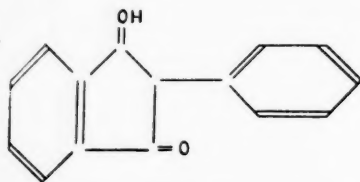
Bei Hunden ist beobachtet worden, dass die intravenös verabreichte, tödliche Dicumaroldosis einen akuten Kreislaufkollaps herbeiführt (166). Die Mäuse gingen nach der intravenös applizierten Dicumarolgabe an klonischen Krämpfen zugrunde (140).

Pathologisch-anatomische Untersuchungen an den infolge von Dicumarolwirkung gestorbenen Tieren und Menschen sind nicht wenige durchgeführt worden, aber die Resultate stimmen nicht überein, und ganz besonders betrifft dies das Vorkommen von Leberschäden (17, 60, 89, 100, 101, 102, 107, 148). Bei diesen Untersuchungen sind im allgemeinen makro- und mikroskopische Blutergüsse fast in allen Organen festgestellt worden, ferner toxische Läsionen in den kleinen Blutgefässen, akute Schwellung der Glomerula, toxische lymphoide Gewebsreaktion, Verfettung im Leberparenchym, Verfettung der Leberzellen um die Venae centrales und stellenweise umschriebene Nekrosen.

Gelegentlich rufen auch therapeutische Dosen beim Menschen toxische Nebenwirkungen, wie Übelkeit, Erbrechen und Durchfall hervor. Auch wenn die Laborkontrolle einwandfrei ist, stellen sich in der klinischen Praxis immer wieder Blutungen ein, deren Ausmass in den verschiedenen Materialien unterschiedlich ist, aber im grossen und ganzen scheinen kleinere Blutungen bei etwa 2—4% und grössere bei etwa 1—2% von den Patienten aufzutreten (3, 14, 24, 55, 120). Ständig kommen schwere Blutungen und Todesfälle auch bei sachgemäss behandelten Patienten vor, aber auch infolge von unkontrollierter Verabreichung der Antikoagulantien und durch Fähllässigkeit kommt es zu Vergiftungen (1, 4, 18, 19, 24, 26, 27, 32, 34, 43, 44, 49, 56, 64, 70, 73, 76, 78, 97, 113, 117, 126, 127, 129, 141, 146, 158, 162, 171). Die Blutungen kommen offenbar nicht bloss wegen des herabgesetzten Prothrombinspiegels zustande, sondern es handelt sich um ein grösseres Problem, das sich nicht mit Prothrombinbestimmungen allein aufklären lässt (133). Es sind Veränderungen der Kapillarpermeabilität während der Dicumarolkur festgestellt worden (41, 95, 118, 119), aber für die Beurteilung der Blutungsgefahr nützt die Messung der Kapillarpermeabilität mit dem sog. Göthlin'schen Test nicht viel, weil Blutungen auch dann auftreten können, wenn diese Probe ein normales Resultat ergibt (84).

Phenylindandion

Kabat, Stohlman und Smith (86) haben beobachtet, dass gewisse Indandionderivate den Prothrombinspiegel bei Versuchs-tieren herabsetzen. Von diesen Indandionderivaten kam das 2-Phenylindandion-(1,3), das eine starke Hemmwirkung auf die Blutgerinnung ausübt, in den klinischen Gebrauch (111). Die Substanz besteht aus weissen, festen Kristallen, ist schwach sauer und löst sich in schwachen Alkalien.



2-Phenylindandion-(1,3)

Die Wirkung des Stoffes auf den Prothrombingehalt des Blutes ist viel untersucht worden, und zahlreiche Autoren konnten keine antagonistische Wirkung des Vitamin K beobachten (80, 81, 111, 157), während manche wieder zu anderen Resultaten gekommen sind. So hat z.B. Bjerkelund (19) festgestellt, dass Menadion in grossen Gaben eine antagonistische Wirkung auf das Phenylindandion ausübt. Ferner ist beobachtet worden, dass Vitamin K₁ als Antagonist des Phenylindandions stärker wirkt als Menadion (68, 164).

Bei klinischen Untersuchungen hat es sich als ein brauchbares Antikoagulans bewährt (22, 51). Die Blutungsgefahr ist beim Phenylindandion die gleiche wie auch bei den anderen Antikoagulantien. Nickerson (121) teilt mit, dass bei 7 von 92 Patienten Blutungen vorgekommen seien. Die vom Phenylindandion verursachten Darmstörungen hingegen sind erheblich geringer als beim Dicumarol. Bezüglich der sonstigen Nebenwirkungen sind die Angaben etwas unstimmg. Manche Autoren berichten über Polyurie, Polydipsie und oft auch Tachycardie (157), während andere wiederum keine entsprechenden Beobachtungen gemacht haben. Das Phenylindandion verleiht dem Harn eine orangegelbe Farbe, was die Patienten, sofern sie nicht im Voraus darauf aufmerksam gemacht worden sind, nicht selten beängstigt. Auch kann das

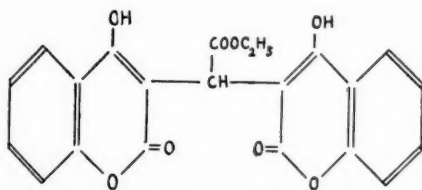
Medikament gelegentlich schwere allergische Erscheinungen hervorrufen, wie Ausschläge, Fieber, Granulozytopenie, Hepatitis usw. (45, 93, 164). Auch hämorrhagische Hautnekrosen können während der Behandlung entstehen (92).

Phenylindandion setzt schon in einer Dose von 5–20 mg/kg beim Kaninchen den Prothrombinspiegel herab, aber die letale Dosis ist etwa 400 mg/kg. Mit dieser Gabe sind bei Versuchstieren Nierenveränderungen erzeugt worden.

Thromexan

Im Jahre 1944 teilte Rosicky (142) mit, ein Antikoagulans, Bis-3,3'-(4-Oxy-Cumarinyl)-Essigsäureäthyl-Ester, synthetisiert zu haben, das besser unter der handelsüblichen Bezeichnung Thromexan oder Pelentan bekannt ist. Diese Substanz ist sowohl experimentell wie auch klinisch viel untersucht worden (11, 25, 39, 40, 62, 63, 91, 128, 130). Es ist eine weisse, in Wasser schwerlösliche kristalline Substanz, die tautomer reagiert (Schmelzpunkt 151–153° bzw. 176–179°C unkorrt.).

Thromexan verhindert, wie auch das Dicumarol, die Bildung von Prothrombin, Faktor VII und Faktor X in der Leber. Seine Wirkung setzt schneller ein als beim Dicumarol und geht auch rascher vorüber. Die Kumulationsneigung ist beim Thromexan vermutlich von allen bisher bekannten Antikoagulantien am geringsten.



Bis-3,3'-(4-Oxy-Cumarinyl)-Essigsäureäthyl-Ester.

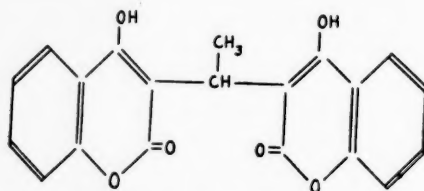
Wenn man die durch die blutgerinnungshemmende Wirkung bedingten Blutungen ausser acht lässt, so hat das Thromexan eine grosse therapeutische Breite.

DL 50 als per os verabreichte Einzeldosis war etwa 750 mg/kg bei Mäusen und 1000 mg/kg bei Kaninchen. Wenn an Mäuse etwa 100 mg/kg täglich verfüttert wurden, trat der Tod gewöhnlich im

Laufe von 26—51 Tagen ein. Bei der Obduktion wurden Fettinfiltration in der Leber und etwas seltener auch Nierenveränderungen festgestellt. Die Ratten hatten desgleichen Fettinfiltration in der Leber (91). Die Angaben über die Blutungsgefahr bei den Patienten sind unterschiedlich. In manchen Untersuchungen sind mehr und in anderen wieder weniger Blutungen festgestellt worden als beim Dicumarol. Offenbar ist die Blutungsgefahr im grossen und ganzen dieselbe wie beim Dicumarol, und manche Todesfälle sind vorgekommen (10, 11, 67, 135). Vitamin K-Präparate und Frischbluttransfusionen werden zur Bekämpfung der Blutungen empfohlen. Leichte toxische Reaktionen, wie Nausea, Durchfall und Ausschläge sind gelegentlich beobachtet worden.

Thrombaton

Auf der Suche nach neuen Cumarolderivaten ist man bestrebt gewesen, die Methylenbrücke des Dicumarols zu verändern und rascher zerfallende Verbindungen herzustellen, deren Toxizität und Kumulationsneigung geringer wären als beim Dicumarol. Ein solches Präparat ist Thrombaton, 3,3'-Äthyliden-bis-(4-Oxy-Cumarin), dessen Eigenschaften zuerst von Jansen und Jensen (79) sowie Lehman (103) beschrieben worden sind.



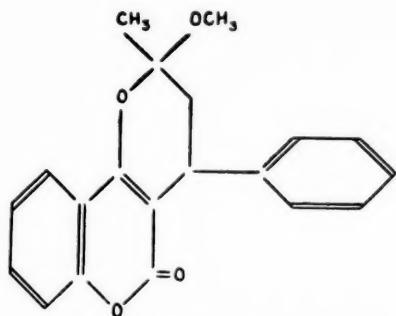
3,3'-Äthyliden-bis-(4 Oxy-Cumarin)

Fantl und Nance (50) haben das Präparat im Jahre 1947 in die klinische Praxis eingeführt. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass auch dieses Antikoagulans eine Kumulationsneigung hat, wenschon nicht so ausgesprochen wie Dicumarol (89). Die klinischen Gaben sind im Vergleich zum Dicumarol das 2—4-Fache. Die Indikationen sind die gleichen wie beim Dicumarol, und desgleichen ist auch die Blutungsgefahr die gleiche. Die Minderung der Kapillarresistenz unter der Einwirkung von Thrombaton soll

allerdings geringer sein als beim Dicumarol (41, 95). Vitamin K-Präparate und Frischbluttransfusionen werden für die Behandlung der vom Thrombaton verursachten Blutungen angeraten.

Cyclocumarol

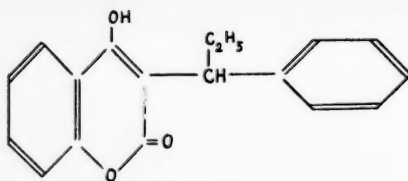
Dieses Cumarolderivat hat Scheel (145) unter der Leitung von Link entwickelt. Chemisch handelt es sich um 3,4-(2'-Methyl-2'-Methoxy-4'-Phenyl)-Dihydropyranocumarin. Die Substanz ist noch schwerer löslich als Dicumarol und besitzt eine 2—3 mal stärkere Wirkung. Der therapeutische Effekt wird nach 24—48 Stunden erreicht und hält erheblich länger an als beim Dicumarol (12, 13). Tierversuche haben ergeben, dass es auf die kleinen Blutgefäße und die Kapillaren nur eine schwach toxische Wirkung ausübt (145). Die Substanz ist klinisch vielseitig untersucht worden und hat sich als gut brauchbar erwiesen (10, 12, 13, 68, 143). Das Cyclocumarol scheint die gleiche Blutungsgefahr mit sich zu bringen wie auch die anderen Antikoagulantien (10, 144). Vitamin K wirkt ziemlich effektiv als Antagonist auf Cyclocumarol, und ist wirksamer als das intravenös verabreichte Menadion (10, 12, 68, 143).



3,4-(2'-Methyl-2'-Methoxy-4'-Phenyl)-Dihydropyranocumarin.

Marcoumar.

Marcoumar, 3-(1'-Phenylpropyl)-4-Oxy-Cumarin, ist in der Schweiz im Laboratorium der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. entwickelt worden. Das Marcoumar ist ein kristallines, farbloses Pulver mit dem Schmelzpunkt 179°C, löslich in organischen Lösungsmitteln (Chloroform, Aether, Alkohol), unlöslich in Wasser,



3-(1'-Phenylpropyl)-4-Oxy-Cumarin.

als Alkalisalz gut wasserlöslich. Das Präparat ist luft- und lichtbeständig und praktisch unbeschränkt haltbar.

Marcoumar ist schon in sehr kleinen Gaben wirksam, und auch die Dauerdosis ist klein, nur etwa 1.5—4.5 mg beim Menschen. Auch das Marcoumar senkt in erster Linie die Konzentration des Faktor VII, in zweiter Linie diejenige des Prothrombins, während der Faktor V-Gehalt des Plasmas unverändert bleibt (85, 96). Der therapeutische Effekt setzt nach 24—48 Stunden ein und hält nach Absetzen des Präparates noch 7—14 Tage an. Nach den Untersuchungen von Jürgens ist Marcoumar weniger toxisch als Dicumarol und beeinträchtigt die Kapillarresistenz weniger, aber sonst besteht bei der Anwendung natürlich das gleiche Blutungsrisiko wie auch bei den anderen Antikoagulantien (47, 88, 167). Vitamin K₁ wirkt antagonistisch und beschleunigt die Wiederherstellung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes. Zahlreiche Untersuchungen haben erwiesen, dass das Präparat für die klinische Praxis gut geeignet ist (47, 69, 96, 116, 167).

2. VERGLEICH DER TOXIZITÄT EINIGER ANTIKOAGULANTIEN

Von sechs synthetischen Antikoagulantien wurde die DL 50 bei der weissen Maus bestimmt, wobei das betreffende Präparat sowohl per os als auch subkutan als Olivenölsuspension appliziert wurde. Aus den Ergebnissen wurde mathematisch der DL 50-Wert berechnet, und die Resultate sind aus der Tabelle 1 ersichtlich. Um zu zeigen, in welchem Verhältnis diese Toxizitätsbestimmungen zu den in der klinischen Praxis üblichen Dosen stehen, wurden aus der Literatur die klinischen Anfangs- und Dauergaben eines jeden Antikoagulans herausgesucht, ferner die bis zum Beginn der therapeutischen Wirkung verstreichende Zeit sowie die Dauer der Antikoagulanswirkung nach Absetzen des Medikaments. Die verschiedenen Autoren empfehlen etwas unterschiedliche Dosierung, weshalb die Zahlen in der Tabelle 2 gewissermassen Mittelwerte sind.

TABELLE 1

DOSIS LETALIS 50% MG/G EINIGER SYNTHETISCHER ANTIKOAGULANTIEN BEI DER WEISSEN MAUS

Verabreichte Substanz	Dosis letalis 50% mg/g bei der weissen Maus			
	Per os		Subkutan	
	♂	♀	♂	♀
Dicumarol	0.21	0.31	0.20	0.33
Thromexan	0.96		0.64	
Thrombaton	0.36		0.36	
Cyclocumarol	0.25		0.018	
Marcoumar	0.31		0.16	
Phenylindandion	0.33	0.46	0.13	0.25

TABELLE 2

EINIGE SYNTHETISCHE ANTIKOAGULANTIEN, ANFANGS- UND DAUERGABEN BEIM MENSCHEN, ZEIT BIS ZUM EINSETZEN DER THERAPEUTISCHEN WIRKUNG UND DAUER DER BLUTGERINNUNGSHEMMENDEN WIRKUNG NACH ABSETZEN DES PRÄPARATES. AUS DER LITERATUR GESAMMELTE ZAHLEN

Antikoagulans	Anfangsgabe mg	Dauergabe mg/24 Stunden	Einsetzen der therapeutischen Wirkung Stunden	Aufhören der Wirkung, Tage
Dicumarol	200—300	50—200	48—96	2—7
Thromexan	900—1800	150—900	18—36	1 ½—2 ½
Cyclocumarol	100—200	12—50 ¹	24—36	4—14
Thrombaton	600—900	200—400	24—48	1 ½—2
Marcoumar	15—20	1.5—4.5	24—48	7—14
Phenylindandion	200—400	50—150	24—36	2—3

¹ Täglich oder jeden 2.—4. Tag.

Vergleicht man anhand der Tabellen 1 und 2 die Gaben der Antikoagulantien, so stellen wir fest, dass in Bezug auf Dicumarol, Thromexan, Thrombaton und Phenylindandion DL 50 der Maus und die Dosen beim Menschen im gleichen Verhältnis stehen, aber beim Marcoumar, das von den Mäusen gut vertragen wird, sind die Gebrauchsmöglichkeiten beim Mensch verhältnismässig sehr gering, welche Erscheinung auch beim Cyclocumarol wahrzunehmen ist.

In der Antikoagulanssterblichkeit der Mäuse liessen sich ganz deutlich zwei Komponenten unterscheiden, nämlich die primäre Sterblichkeit der ersten 24 Stunden und die spätere sekundäre

Sterblichkeit. Sofort im Lauf der ersten 24 Stunden starb ein Teil von den Mäusen, manche schon ein paar Stunden nach Verabreichung des Präparates. Bei diesen Mäusen stellte sich eine sehr frequente, oberflächliche Atmung ein, ferner Zyanose, und bei der Obduktion war im Bereich des Darmapparats starke Dilation der Gefässe wahrzunehmen, aber makroskopische Blutungen waren keine zu sehen. Offenbar stand ein gewisser Kreislaufkollaps in Frage. Bei den an Phenylindandion gestorbenen Mäusen war sehr oft zu beobachten, dass das Herz in der maximalen Systole stehengeblieben war, welche Erscheinung bei Fröschen sehr deutlich hervortrat und weitgehend an Digitalisvergiftung erinnerte. Der ganze Organismus dieser Mäuse nahm eine orangegelbe Farbe an, und vor dem Tod waren alle Tiere sehr durstig, so dass manche beim gierigen Trinken in ihrem Wassergefäss ertranken.

Blutungsmortalität trat im allgemeinen nach 3—6 Tagen ein. Bei raschwirkenden Antikoagulantien traten die Blutungen schneller auf, und bei langsamwirkenden auch noch am 7. und 8. Tag, wonach im allgemeinen keine Mäuse mehr starben. Makroskopische Blutungen wurden zuvörderst im Bereich des Gedärms getroffen, aber auch Blutungen aus Nase und Maul waren keine Seltenheit. Etwas seltener kamen Blutungen im Thorax vor, aber in einigen Fällen wurde u.a. ein Haemopericardium beobachtet, und in einigen anderen wieder makroskopisch deutlich sichtbare Blutungen im Herzmuskel selbst. Bei etwa 20 Mäusen wurden die grossen Gelenke der Gliedmassen untersucht, wobei auch intra-artikuläre Blutungen festgestellt wurden. In der Regel starben bei kleinen Dosen verhältnismässig mehr Versuchstiere an Blutungen, während bei grossen Antikoagulansgaben die primäre Toxizität der Substanz mehr Todesfälle ohne Blutungen herbeiführte. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, dass die Toxizität der Antikoagulantien bis zu einem gewissen Grade auch abhängig von der Art der Applikation verschieden sein kann. Dicumarol und Thrombaton haben bei peroraler und subkutaner Verabreichung den gleichen Effekt, aber bei Thromexan, Phenylindandion und Marcoumar ist die DL 50 bei Verabreichung per os signifikant grösser als die entsprechende subkutane Dosis, und beim Cyclocumarol ist die Dosis per os etwa das Zehnfache.

Die Resultate weisen darauf hin, dass die Toxizität der synthetischen Antikoagulantien zwei verschiedene Komponenten hat.

Die eine wird gebildet von den allgemeintoxischen Eigenschaften der Substanz und die andere von den blutgerinnungshemmenden Eigenschaften.

3. VERSCHIEDENHEIT DER DICUMAROLPRÄPARATE

Im Schrifttum wird öfters berichtet, dass nicht alle Patienten auf die synthetischen Antikoagulantien ansprechen, und die Autoren reden von einer sog. Dicumarolresistenz. Barker (10) teilt mit, dicumarolresistente Fälle in 8% und thromexanresistente in 10% angetroffen zu haben. Früher hatten Evans und Dee (49)

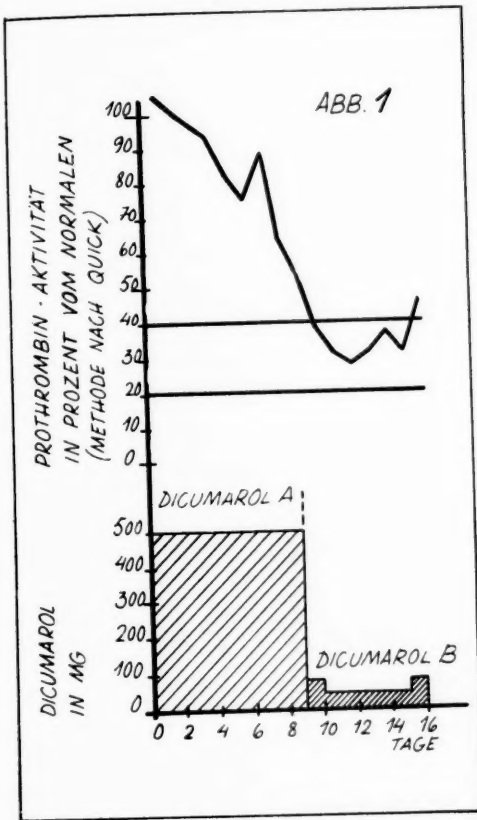


Abb. 1. — Der Patient war ein 53-jähriger, an Herzinfarkt leidender Geschäftsmann, der als dicumarolresistent galt. Als aber das Dicumarolpräparat der einen Fabrik (A) gegen das einer anderen (B) ausgetauscht wurde, reagierte der Patient gut auf das Dicumarol.

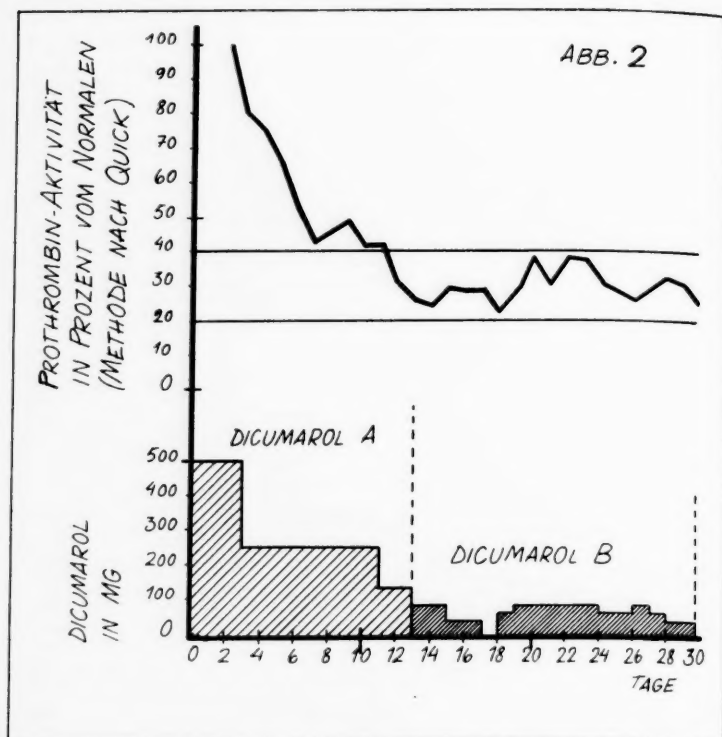


Abb. 2. — Der Patient war ein 53-jähriger, an Herzinfarkt leidender Zimmermann, der schlecht auf Dicumarol ansprach. Nach Austausch des Dicumarolpräparats einer gewissen Fabrik (A) gegen das entsprechende Medikament einer anderen Firma (B) reagierte der Patient aber gut auf das Dicumarol.

über Dicumarolresistenz bei 15% der Fälle berichtet. Es ist jedoch beobachtet worden, dass ein als dicumarolresistent bezeichneter Patient nicht selten doch auf irgendein anderes Antikoagulans gut reagiert (68).

In der II Medizinischen Klinik der Universität Helsinki wurde festgestellt, dass mit Dicumarol nicht immer das gewünschte Resultat erzielt werden konnte, wenn aber das Präparat gegen ein entsprechendes Medikament einer anderen Arzneimittelfabrik oder gegen ein anderes Antikoagulans ausgetauscht wurde, konnte oft der Zweck erreicht werden. Aus den folgenden Abbildungen 1 und 2 ist ersichtlich, wie dank des Austausches eines Dicumarolpräparates gegen das entsprechende Präparat einer anderen Fabrik der Pro-

thrombin-Index auf den gewünschten Stand herabgesetzt werden konnte.

Abb. 3 zeigt die durchschnittliche Dicumaroltagesdosis, die von den mit den beiden verschiedenen Dicumarolpräparaten behandelten Patienten benötigt wurde. Die Dosen zeigen einen deutlichen Unterschied.

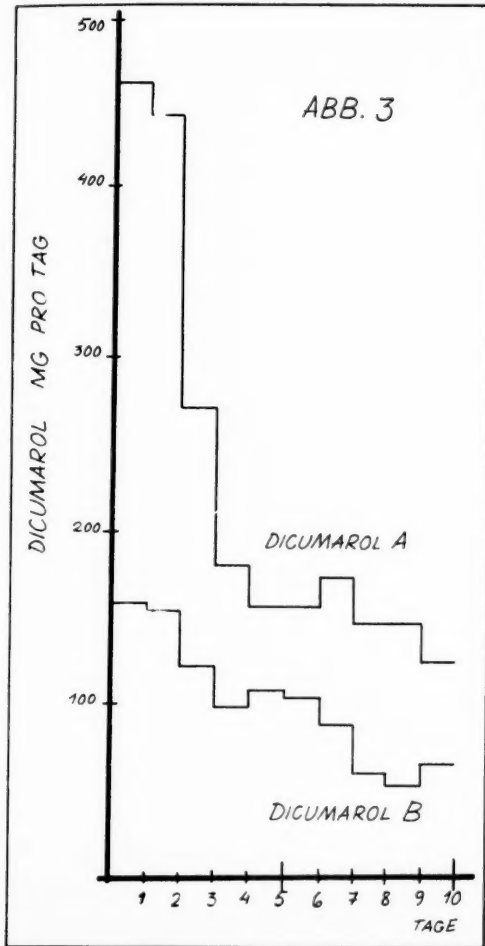


Abb. 3. — Unterschiede in der klinischen Dosierung des Dicumarols von zwei verschiedenen Firmen. Die eine Gruppe, die 13 Männer umfasste, hatte das Dicumarolpräparat einer gewissen Firma bekommen (A), die andere Gruppe, 10 Männer, das entsprechende Präparat einer anderen Firma (B). Die Patienten beider Gruppe hatten vorwiegend Herzthromben und waren klinisch miteinander vergleichbar. Das Präparat A besaß eine beträchtlich schwächere blutgerinnungshemmende Wirkung als das Präparat B.

Die Toxizität der Präparate wurde mit Hilfe von Mäuseversuchen verglichen, und das Grundmaterial ist aus der Tabelle 3 ersichtlich. Man sieht, dass von dem schwächeren Dicumarolpräparat zur Herbeiführung der gleichen Sterblichkeit etwa die doppelte Gabe erforderlich war wie von dem als Standard benutzten, klinisch erprobten, erstklassigen Präparat.

TABELLE 3

TOXIZITÄT VON DICUMAROL A BEI WEISSEN, MÄNNLICHEN MÄUSEN IM VERGLEICH ZU BEI DER UNTERSUCHUNG VERWENDETEM, DEN ANFORDERUNGEN DER PHARMAKOPÖE ENTSPRECHENDEM, SOWOHL BEI TIERVERSUCHEN ALS IN DER KLINISCHEN PRAXIS ALS HOCHKLASSIG ERWIESENEM DICUMAROL

Dicumarol Gabe mg/g	Dicumarol			Dicumarol A.		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		Anzahl	%		Anzahl	%
0.15	14	4	27	20	—	—
0.2	49	23	47			
0.25	25	19	76			
0.3	25	22	88	16	1	6
0.4				10	4	60
0.5				10	8	80

Material der Tabelle statistisch berechnet:

χ^2 -Test.

Dicumarol subkutan verabreicht

Dicumarolgabe 0.2 mg/g

$$\chi^2_{y_1} = 12.05 \quad f = 1 \quad P < 0.001$$

0.3 mg/g

$$\chi^2_{y_2} = 23.34 \quad f = 1 \quad P < 0.001$$

Materialien mit den Gaben 0.2 und 0.3 mg/g zusammen

$$\chi^2_{y_{12}} = 35.39 \quad f = 2 \quad P < 0.001$$

Statistisch ist der Unterschied zwischen den Präparaten sehr signifikant, und das Präparat Dicumarol A ist signifikant schwächer als das Standardpräparat B. Für eine chemische Analyse wurde das schwächere Dicumarolpräparat in das zuständige Kontrolllaboratorium gesandt, das folgende Analysenresultate mitteilte:

	Deklaration	Analyse	Verfahren
Dicumarolum	0.25 g	0.244 g	Ph. Svecica Ed. XI Add.
		0.243 g	Ph. F. VII

Bemerkenswert ist an dem Gutachten, dass nach den Bestimmungsverfahren der allgemein gebräuchlichen Pharmakopöen an dem Präparat nichts auszusetzen war.

Aus den Ergebnissen der Untersuchung lässt sich entnehmen, dass es sich nicht immer um Dicumarolresistenz zu handeln braucht, wenn der erhoffte klinische Effekt nicht erzielt wird. Die festgestellten dicumarolresistenten Fälle reagierten gut auf Thromexan oder Phenylindandion, aber auch der Vertausch des Dicumarolpräparates hatte den gleichen Erfolg. Ferner wird der Wert der chemischen Dicumarolbestimmungsmethoden der Pharmakopöen fragwürdig, weil diesen Bestimmungsmethoden gemäss die Substanz einwandfrei sein müsste, obwohl der biologische Effekt doch ziemlich schwach war. Offenbar lässt auch die Qualitätskontrolle der Antikoagulantien noch manches zu wünschen übrig.

4. EINFLUSS DES GESCHLECHTS AUF DIE TOXIZITÄT

Laut der Literatur sollen sich die Geschlechter hinsichtlich des Ansprechens auf Antikoagulantien nicht voneinander unterscheiden (150). Aus physiologischen Gründen ist das weibliche Geschlecht zeitweise Blutungen unterworfen, und es würde daher ganz natürlich erscheinen, wenn der Blutgerinnungsmechanismus beim weiblichen Geschlecht besser gesichert wäre als beim männlichen. Es ist auch beobachtet worden, dass bei der Frau Thrombosen und Embolien in der Schwangerschaft viel seltener vorkommen als nach dem Partus (110).

Die Toxizität von Dicumarol und Phenylindandion einerseits bei männlichen und andererseits bei weiblichen Mäusen habe ich in meinem Material untersucht, indem Einzeldosen von Antikoagulantien sowohl subkutan als auch per os in Ölsuspension appliziert wurden.

Das Grundmaterial über die Abhängigkeit der Dicumarolsterblichkeit vom Geschlecht ist aus der Tabelle 4 ersichtlich.

Das Material wurde behandelt nach dem χ^2 -Test.

TABELLE 4
EINFLUSS DES GESCHLECHTS AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄUSEN

Dicumarolgabe mg/g	Männchen			Weibchen		
	Anzahl	Gestorben		Anzahl	Gestorben	
		Anzahl	%		Anzahl	%
Subkutan						
0.1				16	—	—
0.15	14	4	27			
0.2	49	23	47	24	2	8
0.25	25	19	76	20	1	5
0.3	25	22	88	19	7	37
0.4				12	9	75
Per os						
0.1				7	—	—
0.15	30	4	13			
0.2	37	17	46	20	1	5
0.25	33	24	73	24	4	19
0.3	33	29	88	25	14	56
0.4				12	9	75

Die mit subkutanen Dicumarolgaben 0.2 mg/g, 0.25 mg/g und 0.3 mg/g ausgeführten Versuche zusammen

$$\chi^2_{y_{123}} = 39.32 \quad f = 3 \quad P > 0.001$$

Die mit peroralen Dicumarolgaben 0.2 mg/g, 0.25 mg/g und 0.3 mg/g ausgeführten Versuche zusammen

$$\chi^2_{y_{123}} = 29.54 \quad f = 3 \quad P > 0.001$$

Das Grundmaterial über den Einfluss des Geschlechts auf die Phenylindandionsterblichkeit bei weissen Mäusen ist aus der Tabelle 5 ersichtlich.

Das Material wurde behandelt nach dem χ^2 -Test.

Die mit subkutanen Phenylindandiongaben 0.15 mg/g und 0.16 mg/g durchgeführten Versuche zusammen

$$\chi^2_{y_{12}} = 45.87 \quad f = 2 \quad P > 0.001$$

Die mit peroralen Phenylindandiongaben 0.3 mg/g, 0.4 mg/g und 0.5 mg/g durchgeführten Versuche zusammen

$$\chi^2_{y_{123}} = 8.40 \quad f = 3 \quad 0.02 < P < 0.05$$

TABELLE 5

EINFLUSS DES GESCHLECHTS AUF DIE PHENYLINDANDIONSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄUSEN

Phenylindandion- gabe mg/g	Männchen			Weibchen		
	Anzahl	Gestorben		Anzahl	Gestorben	
		Anzahl	%		Anzahl	%
Subkutan						
0.11	30	7	23			
0.12	35	12	34			
0.15	40	29	72	25	2	8
0.16	20	19	95	20	3	15
0.2				27	10	37
0.3				17	12	73
0.4				20	20	100
Per os						
0.2	20	3	15			
0.3	28	14	50	10	1	10
0.4	28	18	64	23	9	38
0.5	18	16	88	20	12	60

Es wurde noch der Einfluss des Geschlechts auf die Toxizität bei etwa 20—25 Tage alten Jungmäusen von 8—10 g Gewicht untersucht, denen 0.2 mg/g Dicumarol subkutan verabreicht wurde. Dabei wurden folgende Resultate erhalten:

	Männchen	Weibchen	Zusammen
Gestorben	10	1	11
Lebendig	9	16	25
Zusammen	19	17	36

Die statistische Berechnung des obigen ergibt:

$$\chi^2_y = 7.17 \quad / = 1 \quad 0.001 < P < 0.01$$

Der Unterschied zwischen den Geschlechtern ist also schon bei so jungen Tieren signifikant wahrzunehmen.

Das Resultat der Versuche zeigt sehr signifikant, dass die weiblichen Mäuse grössere Dosen von Dicumarol und Phenylindandion vertragen als die männlichen. Das Geschlecht bewirkt einen sehr signifikanten Unterschied in der Sterblichkeit der weissen Mäuse, wenn das Antikoagulans in grossen Einzelgaben verabreicht wird.

Um feststellen zu können, ob auch in der klinischen Praxis Unterschiede der Dicumaroldosierung bei Männern und Frauen bestehen, sammelte ich aus dem Material der II Medizinischen Klinik der Universität Helsinki wahllos in der Reihenfolge, wie sie in die Klinik gekommen waren, 10 männliche und 10 weibliche Patienten, die mit Dicumarol behandelt worden waren. In beiden Gruppen hatten 8 Patienten ein Herzinfarkt und 2 irgendeine andere Thrombose. Das Alter der Männer schwankte zwischen 32 und 59 Jahren und das mittlere Alter war 48 Jahre sowie das mittlere Körpergewicht 66 kg. Die Frauen hatten entsprechend ein Alter zwischen 43 und 76 Jahren, durchschnittlich 55 Jahre und ein durchschnittliches Körpergewicht von 65 kg. Im klinischen Gebrauch konnte kein deutlicher Unterschied der Dicumaroldosierung bei Männern und Frauen festgestellt werden (Abb. 4).

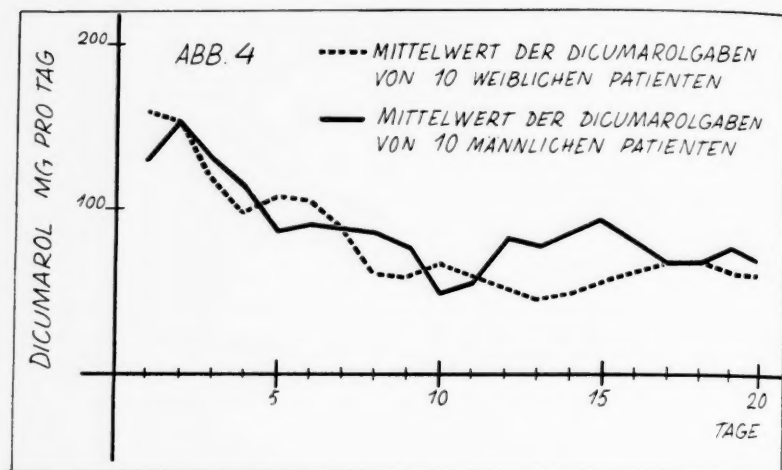


Abb. 4. — Durchschnittliche Tagesdosis von Dicumarol bei Männern und Frauen. Beide Gruppen umfassten jeweils 10 Patienten.

Man muss allerdings berücksichtigen, dass die Frauen in diesem Material ein durchschnittliches Alter von schon 55 Jahren hatten, das fertile Alter also bereits überschritten war, so dass sich über den Einfluss der Hormontätigkeit auf Grund dieser Untersuchung keine Schlussfolgerungen ziehen lassen.

5. EINFLUSS DER KASTRATION AUF DIE TOXIZITÄT

Die oben besprochenen Versuche haben überzeugend gezeigt, dass die weiblichen Mäuse das Dicumarol und Phenylindandion viel besser vertrugen als die männlichen. Man kann daher wohl annehmen, dass die Geschlechtshormone irgendwie an dieser Erscheinung beteiligt sind. Wenn der Unterschied durch die Funktion der Geschlechtsdrüsen bedingt ist, so wäre zu erwarten, dass die Kastration diesen statistisch sehr signifikanten Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Mäusen ausstilgen würde.

Um diese Frage aufzuklären, kastrierte ich Mäuse von etwa 20–25 g Gewicht, indem ich bei den Weibchen die Ovarien und bei den Männchen die Hoden operativ entfernte. Etwa zwei Monate nach der Kastration wurden die Toxizitätsbestimmungen mit Dicumarol durchgeführt, wobei gleichaltrigen kastrierten und nicht kastrierten männlichen und weiblichen Mäusen Dicumarol als Ölsuspension peroral und subkutan gleichzeitig appliziert wurde.

Das Grundmaterial ist aus der Tabelle 6 ersichtlich.

TABELLE 6

EINFLUSS DER KASTRATION AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄUSEN

Verabreichung und Gabe mg/g	Männchen								Weibchen							
	Nicht kastriert				Kastriert				Nicht kastriert				Kastriert			
	Anzahl	Ge- storben	Mor- talitäts- prozent		Anzahl	Ge- storben	Mor- talitäts- prozent		Anzahl	Ge- storben	Mor- talitäts- prozent		Anzahl	Ge- storben	Mor- talitäts- prozent	
Subkutan																
0.2	20	11	55	14	5	36	23	2	8	18	5	28				
Per os																
0.25	27	20	74	14	7	50	22	5	23	20	11	55				

Statistische Behandlung

χ^2 -Test.

Dicumarol subkutan verabreicht

Kastrierte männliche und weibliche Mäuse

$$\chi^2_y = 0.01 \quad f = 1 \quad P > 0.1$$

Nicht kastrierte männliche und weibliche Mäuse

$$\chi^2_y = 8.79 \quad f = 1 \quad 0.001 < P < 0.03$$

Dicumarol per os verabreicht

Kastrierte männliche und weibliche Mäuse

$$\chi^2_y = 0.004 \qquad f = 1 \qquad P > 0.1$$

Nicht kastrierte männliche und weibliche Mäuse

$$\chi^2_y = 10.82 \qquad f = 1 \qquad 0.001 < P < 0.01$$

Die subkutane und perorale Verabreichung von Dicumarol hat ergeben, dass zwischen den kastrierten Mäusemännchen und -weibchen kein signifikanter Unterschied bestand, während bei den kastrierten Tieren die Differenz signifikant war. Auf Grund dieser Versuche kann es als statistisch erwiesen gelten, dass die Geschlechtsdrüsen die Dicumarolsterblichkeit bei weissen Mäusen beeinflussen.

6. EINFLUSS DER SEXUALHORMONE AUF DIE TOXIZITÄT

Da die obigen Versuche signifikant gezeigt haben, dass die weiblichen Mäuse grössere Dicumarolgaben vertragen als die männlichen, und dass andererseits die kastrierten Mäusemännchen und -weibchen gleich reagierten, war es interessant zu untersuchen, welche Geschlechtshormone auf die Dicumarolmortalität bei den Mäusen einwirken.

Früher ist festgestellt worden, dass die Oestrogene die natürliche Blutgerinnung beschleunigen, indem sie wahrscheinlich die Prothrombin- und AC-Globulinkonzentration im Plasma erhöhen (82). Derartige Oestrogenpräparate sind auch im Handel, und sie sind in der Klinik zur Bekämpfung von spontanen Blutungen sowie als Prophylaxe gegen postoperative Blutungen angewandt worden (74, 75, 94, 109).

Diese Untersuchungen haben gewisse Schwierigkeiten. Wenn man z.B. nicht kastrierten Versuchstieren konträres Sexualhormon appliziert, so geht die eigene Hormonproduktion der Versuchstiere ständig weiter und wird eventuell noch stimuliert und will die Wirkung des verabreichten Hormons aufheben. Andererseits sind die Sexualhormone nicht ganz spezifisch für die Geschlechter, sondern beide besitzen sowohl männliche wie auch weibliche Sexualhormone, wobei nur das Verhältnis zwischen diesen verschieden ist.

Beim weiblichen Geschlecht sind mehrere verschiedene Sexualhormone bekannt, die alle zusammenwirken. Weniger verwickelt ist der heutigen Auffassung gemäss die Hormontätigkeit beim männlichen Geschlecht, wo das Testosteron das vorherrschende Sexualhormon ist. Bei kastrierten Tieren würde die Wirkung vielleicht klarer hervortreten, aber in der klinischen Praxis ist solch ein Fall eine Seltenheit.

Für meine Versuche wählte ich als männliches Sexualhormon das Testosteron und als weibliches Sexualhormon das im Organismus in effektiver Form vorkommende Follikulin.

Den Mäusemännchen wurde 10 Mäuseeinheiten oder 0.005 mg Follikulin (Oestradiol. monobenzoas.) zusammen mit Dicumarol subkutan verabreicht. Eine signifikante Einwirkung auf die Dicumarolsterblichkeit konnte nicht beobachtet werden (Tabelle 7). In der zweiten Versuchsserie bekamen die Tiere jeden zweiten Tag 10

TABELLE 7

EINFLUSS DES FOLLIKULINS BEI MÄNNLICHEN MÄUSEN AUF DIE TOXIZITÄT DES DICUMAROLS

Dicumarolgabe mg/g subkutan	Dicumarol			10 Mäuseeinheiten Follikulin pro Tier + Dicumarol			10 + 10 + 10 Mäuseeinheiten Follikulin pro Tier + Dicumarol		
	Mäuse zus.	Gestorben		Mäuse zus.	Gestorben		Mäuse zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.2	49	23	47	20	11	55	20	7	35
0.25	25	19	76	20	12	60	20	10	50

Mäuseeinheiten Follikulin an im ganzen drei Tagen, und mit der letzten Gabe wurde auch Dicumarol subkutan verabreicht. Eine geringfügige Minderung der Dicumarolsterblichkeit konnte danach beobachtet werden, aber kein statistisch signifikanter Unterschied (Tabelle 7). Wenn das Material nach dem χ^2 -Test getestet wird, ergibt sich $P > 0.1$.

Die Mäuseweibchen bekamen 5 mg Testosteron pro Tier subkutan. Robson (136) verwendet 0.1 mg Testosteron in 0.1 cm Öl zweimal täglich bei der Maus. Auch bei der kastrierten Maus kann die oestrogene Wirkung von 0.0001 mg Oestron, die sonst bei 50% der Tiere Brunst hervorruft, durch 0.4 mg Testosteron verhindert

werden. Demgemäss entsprechen 5 mg pro Tier dem Zehnfachen einer gewissen Mäuseeinheit.

Zugleich mit dem Testosteron wurde Dicumarol subkutan als Einzeldosis gegeben, und das Material ist aus der Tabelle 8 ersichtlich. Bei der anderen Versuchsserie wurden jeden zweiten Tag 5 mg/g Testosteron gegeben, und zwar im ganzen dreimal und zusammen mit der letzten Dosis Dicumarol. Die Resultaten gehen aus der Tabelle 8 hervor. Es ist kein statistisch signifikanter Unterschied wahrzunehmen. Bei der Testung mit dem χ^2 -Test ergibt sich $P > 0.1$

TABELLE 8
EINFLUSS DES TESTOSTERONS BEI WEIBLICHEN MÄUSEN AUF DIE TOXIZITÄT DES DICUMAROLS

Dicumarolgabe mg/g subkutan	Dicumarol			5 mg Testosteron pro Tier + Dicumarol			5 + 5 + 5 mg Tes- tosteron pro Tier + Dicumarol		
	Mäuse zus.	Gestorben		Mäuse zus.	Gestorben		Mäuse zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.2	24	2	8	20	2	10	19	1	5
0.3	19	7	37	20	4	20	19	8	42

Da bei den oben besprochenen Versuchen kein signifikanter Unterschied erzielt wurde, während die Resultate aber doch dafür sprachen, dass die Sexualhormone die Dicumarolsterblichkeit beeinflussen könnten, kastrierte ich männliche Mäuse und untersuchte, ob und wie das Follikulin bei diesen die Toxizität des Dicumarols beeinflusst. Etwa 3—4 Wochen nach der Kastration bekamen die Mäuse jeden zweiten Tag 10 Mäuseeinheiten Follikulin, insgesamt dreimal. Zusammen mit der letzten Follikulingabe wurde Dicumarol subkutan verabreicht. Folgende Resultate wurden erhalten:

Dicumarolgabe 0.2 mg/g			
	Nicht kastrierte Mäusemännchen	Kastrierte Mäusemännchen, die 10 + 10 + 10 Mäuseeinheiten Follikulin bekommen haben	Zus.
Gestorben	23	—	23
Am Leben	26	17	43
	49	17	66

Der χ^2 -Test ergibt $0.001 < P < 0.01$, das Follikulin verminderte also signifikant die Dicumarolsterblichkeit der kastrierten Mäuse.

Auch der Einfluss des Testosterons auf die kastrierten Mäuseweibchen wurde auf die gleiche Weise untersucht, es konnte aber kein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Das Grundmaterial ist aus der Tabelle 9 ersichtlich, und die Testung ergab $P > 0.1$, so dass also in diesen Versuchsverhältnissen kein statistisch signifikantes Resultat erzielt wurde.

TABELLE 9
EINFLUSS DES TESTOSTERONS AUF KASTRIERTE MÄUSEWEIBCHEN

Dicumarolgabe mg/g subkutan	Mäuseweibchen			Kastrierte Mäuseweibchen		
	Dicumarol			5 + 5 + 5 mg Testosteron pro Tier + Dicumarol		
	Mäuse zus.	Anzahl	%	Mäuse zus.	Anzahl	%
0.2	24	2	8	13	2	15
0.3	19	7	37	13	7	54

7. EINFLUSS DER GRAVIDITÄT AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT

Die klinischen Beobachtungen sprechen für eine erhöhte Thromboseneigung gegen Ende der Schwangerschaft, insbesondere zur Zeit der Entbindung und unmittelbar danach. Es ist festgestellt worden, dass der Prothrombinspiegel in dieser Zeit steigt (122, 161). Man hat jedoch beobachtet, dass trächtige und säugende Ratten grössere Dicumarolgaben vertragen als die Rattenweibchen sonst (52, 53). Bei graviden Kaninchen ist unter der Einwirkung von Dicumarol intrauterines Absterben der Föten beobachtet worden, und bei den lebendgeborenen Jungen Neigung zu Blutungen und Verminderung der Prothrombinaktivität (98). Auch bei schwangeren Frauen ist intrauteriner Fruchttod offenbar infolge von Behandlung mit Antikoagulantien vorgekommen (66).

Der Einfluss der Gravidität auf die Dicumarolsterblichkeit ist bei weissen Mäusen untersucht worden. Mäuseweibchen und -männchen wurden für fünf Tage in den gleichen Behälter getan

und dann wieder getrennt. Weitere fünf Tage später, als eine eventuelle Gravidität also 5—10 Tage gedauert hatte, bekamen die Mäuse eine subkutane oder perorale Einzeldosis Dicumarol. Die Mäuse wurden so lange in dem Gefäss gehalten, bis alle trächtigen Tiere geboren hatten. Wenn zehn Tage nach der Injektion äusserlich keine Anzeichen der Gravidität wahrzunehmen waren, wurden die Tiere getötet und untersucht, ob sie vielleicht doch trächtig waren, aber nur einen Fötus hatten. Manche von den Versuchstieren frassen nämlich ihre Jungen unmittelbar nach dem Partus auf, und diese Weibchen wären den Beobachtungen dann entgangen. Etwa $\frac{2}{3}$ von den Mäusen waren trächtig. Die graviden Mäuse starben im Laufe von 3—6 Tagen an Uterusblutungen, einige hatten auch makroskopisch wahrnehmbare Darmblutungen. Bei der Obduktion wurde festgestellt, dass manche von den Föten weitgehend mazeriert waren, was darauf hinweist, dass die Föten nicht selten schon vor dem Muttertier abgestorben waren. Unter den lebend zur Welt gekommenen Jungen kamen ungewöhnlich viel Todesfälle vor, und viele Alttiere brachten ihre Jungen um.

Das Grundmaterial ist in der Tabelle 10 zusammengestellt.

TABELLE 10
EINFLUSS DER GRAVIDITÄT AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄUSEN

Verabreichung und Gabe mg/g	Mäuseweibchen			Trächtige Mäuseweibchen		
	Anzahl	Ge- storben	Sterb- lichkeits- prozent	Anzahl	Ge- storben	Sterb- lichkeits prozent
Subkutan						
0.1	15	—	—	15	9	6
0.2	24	2	8	15	12	72
0.3	19	7	37			
0.4	12	9	75			
Per os						
0.1	7	—	—	17	9	53
0.25	21	4	19	12	11	91
0.3	22	14	64			

Statistische Behandlung

χ^2 -Test.

Dicumarol subkutan verabreicht

Dicumarol 0.1 mg/g

$$\chi^2_{Y_1} = 10.16 \quad f = 1 \quad 0.001 < P < 0.01$$

Dicumarol 0.25 mg/g

$$\chi^2_{Y_2} = 17.61 \quad f = 1 \quad P < 0.001$$

Die mit den Dicumaroldosen 0.1 und 0.25 mg/g gemachten Versuche zusammen

$$\chi^2_{Y_{12}} = 27.77 \quad f = 2 \quad P < 0.001$$

Dicumarol per os verabreicht

Dicumarol 0.1 mg/g

$$\chi^2_{Y_1} = 3.89 \quad f = 1 \quad 0.02 < P < 0.05$$

Dicumarolia 0.25 mg/g

$$\chi^2_{Y_2} = 13.45 \quad f = 1 \quad P < 0.001$$

Die mit den Dicumaroldosen 0.1 und 0.25 mg/g gemachten Versuche zusammen

$$\chi^2_{Y_{12}} = 17.34 \quad f = 2 \quad P < 0.001$$

Die statistische Behandlung des Materials zeigt, dass die trächtigen und die nicht-graviden Mäuseweibchen sehr signifikant voneinander abwichen. Man kann natürlich den Einwand erheben, dass die injizierte Dicumarolgabe pro trächtige Maus wegen des Gewichts von Uterus und Föten relativ grösser war als bei den nicht-trächtigen Tieren. Es wurde das durchschnittliche Gewicht der Mäuse in den Gruppen, die subkutan Dicumarol erhalten hatten, berechnet, und in beiden Gruppen war dieses mittlere Gewicht, offenbar zufälligerweise, das gleiche, nämlich 32.2 g. Da die Gravidität zum Zeitpunkt der Dicumarolapplikation erst 5—10 Tage gedauert hatte, ist der durch Uterus und Föten bedingte Gewichtsunterschied keine genügende Erklärung für den Sachverhalt. Bei den trächtigen Tieren ruft 0.1 mg/g ungefähr die gleiche Mortalität hervor wie 0.2 mg/g bei nicht trächtigen Tieren, und entsprechend 0.2 mg/g bei graviden die gleiche Sterblichkeit wie 0.4 mg/g bei nicht-graviden.

Da die graviden gestorbenen Mäuse alle grosse Uterusblutungen hatten, und nur zwei von ihnen ausserdem noch makroskopisch sichtbare Darmblutungen, so dürften die Versuche zugunsten der Auffassung sprechen, dass das Dicumarol in der Schwangerschaft die Gefahr von Uterusblutungen erhöht.

8. EINFLUSS DES ALTERS AUF DIE TOXIZITÄT,

Zu diesen Versuchen wurden weisse Jungmäuse benutzt, die ein Gewicht von etwa 8—10 g hatten und c. 20—25 Tage alt waren. In diesem Alter können die Jungen schon selber fressen und sind nicht mehr von der Muttermilch abhängig. Die ausgewachsenen Mäuse wogen 22—30 g. Das Dicumarol wurde als feinverteilte Ölsuspension subkutan in Gaben von 0.2 mg/g verabreicht.

Männchen			
	Jungmäuse	Ausgewachsene Mäuse	Zusammen
Gestorben	10	23	33
Lebendig	9	26	35
Zusammen	19	49	68

Das Material wurde nach dem χ^2 -Test getestet.

$$\chi^2_y = 0.02 \quad f = 1 \quad P > 0.1$$

Weibchen			
	Jungmäuse	Ausgewachsene Mäuse	Zusammen
Gestorben	1	2	3
Lebendig	16	22	38
Zusammen	17	24	41

$$\chi^2_y = 0.10 \quad f = 1 \quad P > 0.1$$

Die Versuche ergaben, dass Jungmäuse diesen Alters und ausgewachsene Mäuse hinsichtlich der Dicumarolsterblichkeit nicht voneinander abweichen. Ein deutlicher Unterschied hingegen ist zwischen den männlichen und weiblichen Jungmäusen wahrzunehmen.

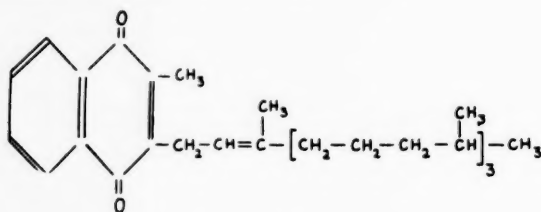
Betrachtet man die Mortalität an Blutungen, so lässt sich zwischen den Jungmäusen und den ausgewachsenen Tieren ein kleiner Unterschied wahrnehmen. Von den zehn gestorbenen Jungmäusen gingen 9 im Laufe der ersten 24 Stunden zugrunde und nur 1 im Laufe des nächsten Tages. Makroskopische Blutungen hatten 5 Jungmäuse. Die Häufigkeit der Blutungen bei den ausgewachsenen Mäusen war von der gleichen Grössenklasse, d.h. 43%, aber bei den ausgewachsenen traten die Blutungen meistens im Laufe von 4–6 Tagen nach der Dicumarolverabreichung ein, während wiederum die allermeisten Jungmäuse im Laufe der ersten 24 Stunden zugrunde gingen.

IV. ÜBER DIE ANTAGONISTEN DER SYN- THETISCHEN ANTIKOAGULANTIEN

1. FRÜHERE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ANTAGONISTEN DER SYNTHETISCHEN ANTIKOAGULANTIEN

Als Antagonisten der synthetischen Antikoagulantien sind die K-Vitamine empfohlen worden, von denen es sowohl sog. natürliche wie auch synthetische gibt. Die Auffindung dieser Vitamine fusst auf den Untersuchungen von Dam an jungen Hühnern, bei denen es zu einer haemorrhagischen Diathese kam, wenn sie mit »synthetischer Kost« gefüttert wurden (35, 36). Dam stellte fest, dass es sich um ein bisher unbekanntes, fettlösliches Vitamin handelte, das er als Koagulationsvitamin bezeichnete.

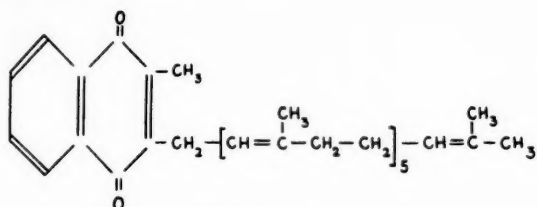
Die chemische Struktur des Vitamin K₁ wurde im Jahre 1939 aufgeklärt (5, 16, 54); es handelt sich um 2-Methyl-3-Phytyl-1,4-Naphthochinon. Vitamin K₁ wird von grünen, assimilierenden Pflanzen gebildet, und kommt hauptsächlich in Alfalfa, Kastanienblättern, Spinat, Gras, Blumenkohl, Nesseln, Fichtennadeln und Tannennadeln vor. Vitamin K₁ ist nach Karrer und Geiger (87) bei Zimmertemperatur ein leicht gelbes Öl, bildet aber in Azeton oder Alkohol gelöst nach Kühlung kristalline Rosetten derselben Farbe (16). Der Schmelzpunkt liegt bei -20°C .



Vitamin K₁.

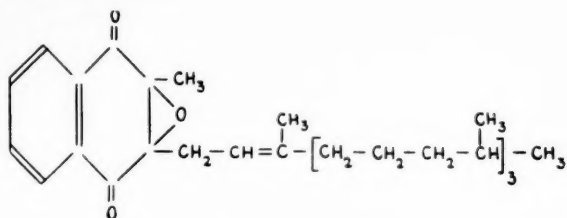
Vitamin K₂ wurde in kristalliner Form aus Fischmehl isoliert, und es wurde festgestellt, dass es sich um 2-Methyl-3-Squalelyl-1,4-Naphthochinon handelte (108). Vitamin K₂ entsteht bei der Gärung

durch die Tätigkeit zahlreicher Bakterien. Zu ihnen gehören vor allem *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coli*, *Chromobacterium prodigiosus*, *Mycobacterium tuberculosis* und *Sarcina lutea*. *Pseudomonas aeruginosa* ist die einzige von Almquist und Stockstadt (6, 7) gefundene Bakterienart, die überhaupt kein Vitamin K synthetisieren kann.



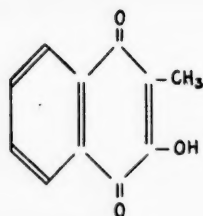
Vitamin K₉.

Vom Vitamin K₁ ist auch ein Oxyd hergestellt worden, Vitamin K₁-Oxyd (2-Methyl-3-Phythyl-1,4 Naphthoquinone-2,3-Oxyd), das eine fettlösliche Substanz ist, die auch intravenös als Emulsion verabfolgt werden kann.

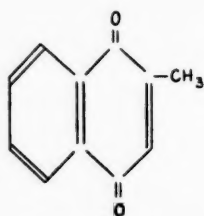
Vitamin K₁-Oxvd.

Vitamin K₁-Oxyd wird in vielen Untersuchungen als Antagonist der synthetischen Antikoagulantien, zuvörderst des Dicumarols, empfohlen (26, 37, 77, 106, 112).

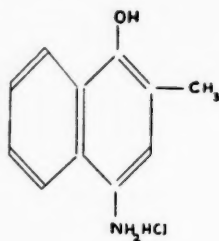
Ausser den beiden genannten natürlichen K-Vitaminen sind auch zahlreiche synthetische Vitamin K-Präparate bekannt. Bevor die chemische Struktur der erwähnten Vitamine K₁ und K₂ aufgeklärt worden war, berichteten Almquist und Klose (5) über eine synthetische Verbindung 2-Methyl-3-Hydroxy-1,4-Naphthochinon, die eine beträchtliche Vitamin K-Aktivität besitzt, die als Vitamin K₃ bezeichnet wird und besser unter dem Namen Phthiocol bekannt ist. Die Substanz löst sich in Wasser schlecht, aber ihre Natriumsalze sind wasserlöslich.

Vitamin K₃.

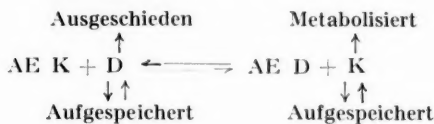
Später ist festgestellt worden, dass 2-Methyl-1,4-Naphthochinon eine grosse Vitamin K-Aktivität besitzt (5, 8, 160). Wenn das Gewicht zurgrunde gelegt wird, so ist seine antihaemorrhagische Aktivität etwa dreimal so gross wie beim Vitamin K₁. Es bildet klargelbe Kristalle von etwas bitterem Geschmack und Geruch, ist luft- und feuchtigkeitsbeständig, aber lichtempfindlich. Der Schmelzpunkt liegt bei etwa 105—107°C. Das Präparat ist am besten bekannt unter dem Namen Menadion, das auch als wasserlösliches Menadionbisulfit auftritt. Als Vitamin trägt es den Namen Vitamin K₄.

Vitamin K₄.

Bei der Suche nach wasserlöslichen Vitamin K-Präparaten wurde 4-Amino-2-Methyl-1-Naphtol HCl gefunden, das eine hohe Vitamin K-Aktivität besitzt (36, 40). Der Stoff hat ferner noch antibakterielle Eigenschaften in Bezug auf viele gramnegative und grampositive Bakterien (154).

Vitamin K₅.

Den antagonistischen Wirkungsmechanismus der K-Vitamine und der synthetischen Antikoagulantien hat man noch nicht völlig aufzuklären vermocht. Man hat die strukturelle Ähnlichkeit z.B. beim Dicumarol und 2-Methyl-1,4-Naphthochinon beachtet und angenommen, dass das Dicumarol die Ausnutzung des Vitamin K in der Leber blockiere. Woolley (168) vermutet, das Dicumarol fungiere als Antivitamin. Collentine und Quick (31) glauben ebenfalls, das Dicumarol sei als Antivitamin tätig und stellten eine Hypothese über den Wirkungsmechanismus auf. Dicumarol und Vitamin K wirken als Antagonisten, und vermutlich beeinflussen beide den gleichen Faktor nach dem gleichen Mechanismus. Vitamin K fungiert als prosthetische Gruppe, die sich mit dem Apoenzym kombiniert und ein aktives Enzym (AE K) bildet, das für die Synthese des Prothrombins erforderlich ist. Die Hypothese wird noch weiter entwickelt, indem angenommen wird, dass das Dicumarol sich in der gleichen Weise mit dem Apoenzym kombiniert und AE D bildet, das nicht nur inaktiv ist, sondern das Vitamin K daran verhindert, ein wirkliches Holoenzym zu bilden. Als Arbeitshypothese legen die Autoren folgendes Schema vor:



Es ist nachgewiesen worden, dass das aufgespeicherte Vitamin K den Organismus gegen Dicumarol resistent macht. Ferner ist erwiesen, dass das Dicumarol im Organismus aufgespeichert werden kann und das verabreichte Vitamin K antagonistisch beeinflusst.

Die antagonistische Wirkung von Vitamin K und Dicumarol ist wahrscheinlich nicht so einfach, man dürfte aber doch voraussetzen können, dass drei Hauptfaktoren beteiligt sind: 1) Die relative Affinität von Vitamin K und Dicumarol zu dem für die Prothrombinsynthese verantwortlichen Mechanismus, 2) Die im Organismus gespeicherten Quantitäten der beiden Agenzien und 3) Anteil der Eliminierung, entweder durch Ausscheidung oder metabolischen Abbau oder Inaktivierung.

Der Antagonismus der synthetischen Antikoagulantien und des Vitamin K. Die Forschungen haben sich in erster Linie auf die

Frage des Antagonismus von Dicumarol und Vitamin K konzentriert, aber auch nach der Auffindung eines jeden neuen Antikoagulans' sind Versuche gemacht worden, um zu ermitteln, ob Vitamin K antagonistisch wirkt oder nicht. Hinsichtlich des Effekts der Vitamin K-Präparate, und insbesondere der synthetischen, gehen die Ansichten auseinander. Freilich muss gesagt werden, dass im allgemeinen auch garnicht versucht worden ist, die Resultate statistisch-mathematisch zu analysieren, um zu sehen, ob die beobachteten Unterschiede tatsächlich signifikant sind. Manche Autoren sind der Meinung, die synthetischen Vitamin K-Präparate, zuvörderst die wasserlöslichen Derivate, hätten keine antagonistische Wirkung auf das Dicumarol (17, 112). Boyd und Warner (23) konnten mit Menadion und Menadionbisulfit in grossen Gaben keine Wirkung auf das Prothrombin wahrnehmen, unabhängig davon, ob das Präparat vor, nach oder gleichzeitig mit Dicumarol verabreicht wurde. Untersuchungen mit Isotopen haben ergeben, dass das Dicumarol schneller aus der Leber ausgeschieden wird, wenn das Versuchstier Vitamin K (2-Methyl-1,4-Naphthochinon-Phosphorsäure-Ester) bekommen hat, als wenn dies nicht der Fall war (99). Trotzdem wird Menadion als Antagonist der synthetischen Antikoagulation sehr viel empfohlen, entweder als solches oder als wasserlösliches Derivat (31, 33, 73, 100, 101, 102, 125). Die antagonistische Wirkung von Vitamin K₁ und Vitamin K₁-Oxyd auf die synthetischen Antikoagulantien, zuvörderst Dicumarol, hat man viel untersucht. Bei Tierversuchen sind gute Resultate erzielt worden, und auch im klinischen Gebrauch konnte der durch Antikoagulantien herabgesetzte Prothrombinspiegel auf die Norm gesteigert werden (17, 37, 57, 61, 68, 73, 77, 85, 112, 152).

Was wiederum das Phenylindandion betrifft, so haben zahlreiche Autoren mitgeteilt, das Vitamin K habe keine antagonistische Wirkung auf dieses Präparat (80, 111, 157), obwohl auch gegenteilige Mitteilungen vorliegen (19). Überprüft man die durch Antikoagulantien verursachten Todesfälle, so entnimmt man den Beschreibungen, dass alle Vitamin K-Präparate sowie Bluttransfusionen angewandt worden sind, aber ohne Erfolg. Offenbar besitzen die Vitamin K-Präparate keine zuverlässige Wirksamkeit, und wir sind von effektiven Antagonisten der synthetischen Antikoagulantien immer noch recht weit entfernt.

2. MENADION ALS ANTAGONIST VON DICUMAROL

Die antagonistische Wirkung von Menadion auf Dicumarol wurde an weissen Mäusen untersucht, indem männlichen Versuchstieren gleichzeitig eine Einzeldosis von Dicumarol und Menadion als Ölsuspension entweder subkutan oder mit einer Kanüle in den Magen gegeben wurde. Es wurden drei verschieden grosse Dicumaroldosen gegeben, nämlich 0.15, 0.2 und 0.25 mg/g, und entsprechend zwei verschiedene Dosen Menadion, nämlich 0.005 mg/g und 0.02 mg/g. In den früheren Untersuchungen hatte

TABELLE 11

EINFLUSS DES MENADIONS AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄNNLICHEN MÄUSEN

Menadion und Dicumarol als feinverteilte Olivenölsuspension subkutan verabreicht

Dicumarolgabe mg/g	Dicumarolgruppe			Dicumarol- und Menadiongruppen					
				Menadiongabe					
				0.005 mg/g			0.02 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.15	14	4	27	25	4	16	25	19	76
0.2	49	23	47	20	6	30	20	17	85
0.25	25	19	76	24	12	50	23	21	91

TABELLE 12

EINFLUSS DES MENADIONS AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN, MÄNNLICHEN MÄUSEN

Menadion und Dicumarol als feinverteilte Olivenölsuspension mit einer Kanüle in den Magen verabreicht

Dicumarolgabe mg/g	Dicumarolgruppe			Dicumarol- und Menadiongruppen					
				Menadiongabe					
				0.005 mg/g			0.02 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.15	30	4	13	20	1	5	20	7	35
0.2	37	17	46	15	3	20	20	15	75
0.25	33	24	73	25	4	16	25	22	88

die Menadiongabe 0.05 mg/g bei den Mäusen zu keinen Todesfälle geführt.

Das Grundmaterial, wo Dicumarol und Menadion subkutan verabfolgt wurde, geht aus der Tabelle 11 hervor, und bei peroraler Verabreichung aus der Tabelle 12.

Aus der Tabellen ist zu entnehmen, dass die Sterblichkeit der Mäuse bei einer Dicumarol- und Menadiongabe von 0.005 mg/g etwas kleiner war, als wenn die Menadiongabe 0.02 mg/g grösser war als die Dicumarolgabe. Ohne statistische Analyse lässt sich jedoch nicht sagen, ob die Unterschiede signifikant sind.

Statistische Behandlung

χ^2 -Test.

Menadion und Dicumarol subkutan verabreicht

Wenn die Versuchsserien, in denen 0.005 mg/g Menadion und die Dosen 0.15, 0.2 und 0.25 mg/g Dicumarol verabreicht worden sind, vereint werden, ergibt sich folgendes Resultat

$$\chi^2_{Y_{123}} = 3.85 \quad f = 3 \quad P > 0.1$$

Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant, obwohl das Grundmaterial dafür sprach, dass eine Menadiongabe von 0.005 mg/g die Dicumarolsterblichkeit vermindern könne.

Vereinigt man die Versuchsserien, bei denen die Tiere 0.02 mg/g Menadion und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol bekommen haben, ergibt sich folgendes Resultat

$$\chi^2_{Y_{123}} = 14.52 \quad f = 3 \quad 0.001 < P < 0.01$$

Der Unterschied ist statistisch signifikant, aber dahingehend, dass die Menadiongabe von 0.02 mg/g die Mortalität der Versuchstiere erhöhte und nicht verminderte.

Menadion und Dicumarol per os verabreicht

Vereinigt man die Versuchsserien, bei denen die Tiere 0.005 mg/g Menadion und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol per os bekommen hatten, so ergibt sich

$$\chi^2_{Y_{123}} = 18.40 \quad f = 3 \quad P < 0.001$$

Die per os verabreichte Menadiongabe von 0.005 mg/g verminderte signifikant die Dicumarolsterblichkeit bei weissen Mäusen.

Vereinigt man diejenigen Versuchsserien, in denen die Tiere 0.02 mg/g Menadion und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol per os erhalten hatten, so ergibt sich

$$\chi^2_{N_{123}} = 6.69 \quad f = 3 \quad 0.05 < P < 0.1$$

Die Menadiongabe 0.02 mg/g beeinflusst nicht eindeutig signifikant die Dicumarolsterblichkeit. Das Grundmaterial weist jedoch darauf hin, dass die Dosis die Dicumarolmortalität eher erhöht als herabsetzt.

Die mit subkutaner und mit peroraler Verabreichung durchgeführten Versuchsserien zusammen

Vereinigt man die Versuchsserien, in denen die Tiere 0.005 mg/g Menadion und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol sowohl subkutan als auch per os bekommen hatten, so erhält man folgendes Resultat:

$$\chi^2_{N_{123}} = 21.14 \quad f = 3 \quad P < 0.001$$

Vereinigt man entsprechend diejenigen Versuchsserien, wo den Tieren 0.02 mg/g Menadion und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol sowohl subkutan als auch per os verabreicht worden war, so ergibt sich

$$\chi^2_{N_{123}} = 27.46 \quad f = 3 \quad P < 0.001$$

Man sieht, dass die Menadiondosis 0.005 mg/g die Dicumarolsterblichkeit signifikant verminderte. Die Menadiongabe 0.02 mg/g erhöhte signifikant die Dicumarolsterblichkeit bei weissen Mäusemännchen. Offenbar ist die genannte Menadiongabe schon toxisch, obwohl 0.05 mg/g Menadion allein noch keine Sterblichkeit bei den Mäusen hervorrief.

Um ermitteln zu können, ob das Menadion effektiver wirksam wäre, wenn es den Versuchstieren mehrmals auch nach der Applikation von Dicumarol verabreicht wird, wurden Versuche gemacht, wo Dicumarolgaben von 0.2 und 0.25 mg/g und Menadiongaben von 0.005 mg/g gleichzeitig mit dem Dicumarol sowie ausserdem noch zweimal danach jeden zweiten Tag verabreicht wurden. Im Vergleich zu den schon weiter vorn beschriebenen Versuchen war jedoch kein Unterschied wahrzunehmen.

3. MENADION ALS ANTAGONIST VON PHENYLINDANDION

Der Effekt des Menadions als Antagonist von Phenylindandion wurde untersucht, indem weissen männlichen Mäusen gleichzeitig Phenylindandion und Menadion als Ölsuspension entweder subkutan oder mit einer Kanüle in den Magen verabfolgt wurde. Die Mäuse bekamen zwei Menadiongaben, nämlich 0.005 mg/g und 0.02 mg/g, und entsprechend drei verschiedene Phenylindandiongaben, die aus den Tabellen 13 und 14 ersichtlich sind, in denen das eigentliche Grundmaterial aufgeführt ist.

TABELLE 13

EINFLUSS VON MENADION AUF DIE PHENYLINDANDIONSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN, MÄNNLICHEN MÄUSEN
Menadion und Phenylindandion subkutan als feinverteilte Olivenölsuspension verabreicht

Phenylindandiongabe mg/g	Phenylindandion- gruppe			Phenylindandion- und Menadion- gruppen					
				Menadiongabe					
				0.005 mg/g			0.02 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.11	30	7	23	24	2	9	28	18	64
0.12	35	12	34	25	—	—	15	11	73
0.14	30	19	60	20	6	30	30	29	96

TABELLE 14

EINFLUSS VON MENADION AUF DIE PHENYLINDANDIONSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN, MÄNNLICHEN MÄUSEN
Menadion und Phenylindandion als feinverteilte Olivenölsuspension mit einer Kanüle in den Magen verabfolgt

Phenylindandiongabe mg/g	Phenylindandion- gruppe			Phenylindandion- und Menadion- gruppen					
				Menadiongabe					
				0.005 mg/g			0.02 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.2	20	3	15	20	—	—	24	8	33
0.3	28	14	50	25	6	24	25	16	64
0.4	28	18	64	20	5	25	24	15	62

Aus den Tabellen ist zu entnehmen, dass bei gleichzeitiger Verabreichung von 0.005 mg/g Menadion und Phenylindandion die Mortalität kleiner war als mit blossem Phenylindandion. Eine Menadiongabe von 0.02 mg/g zusammen mit Phenylindandion erhöhte die Phenylindandionsterblichkeit. Die statistische Behandlung des Materials ist erforderlich, weil die Unterschiede nicht ohne weiteres sicher sind.

Statistische Behandlung

χ^2 -Test.

Menadion und Phenylindandion subkutan

Vereinigt man die Versuchsserien, wo die Tiere 0.005 mg/g Menadion und 0.11, 0.12 sowie 0.14 mg/g Phenylindandion bekommen hatten, so ergibt sich

$$\chi^2_{N_{123}} = 13.98 \quad f = 3 \quad 0.001 < P < 0.01$$

Die Menadiondosis 0.005 mg/g setzte die Phenylindandionsterblichkeit bei den Mäusen signifikant herab.

Vereinigt man diejenigen Versuchsserien, wo den Tieren 0.02 mg/g Menadion und 0.11, 0.12 sowie 0.14 mg/g Phenylindandion verabfolgt worden war, so erhält man

$$\chi^2_{N_{123}} = 21.71 \quad f = 3 \quad P < 0.001$$

Die Menadiongabe 0.02 mg/g erhöhte signifikant die Phenylindandionsterblichkeit bei weissen Mäusemännchen. Offenbar wirkt das Menadion bereits in der genannten Gabe toxisch, obwohl bei den Versuchen 0.05 mg/g Menadion allein noch keine Mortalität verursachte.

Menadion und Phenylindandion per os

Vereinigt man die Versuchsserien, in denen den Tieren 0.005 mg/g Menadion und 0.2, 0.3 sowie 0.4 mg/g verabfolgt wurde, ergibt sich folgendes Resultat:

$$\chi^2_{N_{123}} = 9.94 \quad f = 3 \quad 0.01 < P < 0.02$$

Die Menadiongabe 0.005 mg/g verminderte fast signifikant die Phenylindandionsterblichkeit bei weissen Mäusen.

Vereinigt man wiederum diejenigen Versuchsserien, wo die Tiere 0.02 mg/g Menadion und 0.2, 0.3 sowie 0.4 Phenylindandion bekommen hatten, so erhält man

$$\chi^2_{N_{123}} = 1.68 \quad f = 3 \quad P > 0.1$$

Die Menadiongabe 0.02 mg/g hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Phenylindandionsterblichkeit, obwohl das Grundmaterial darauf hinwies, dass es die Mortalität erhöhen könne.

Die Menadiongabe 0.005 mg/g bei der weissen Maus setzt sowohl bei peroraler als auch subkutaner Verabreichung die Phenylindandionsterblichkeit signifikant herab. Die Menadiongabe 0.02 mg/g erhöht die Mortalität, was offenbar durch die eigene Toxizität des Menadions in dieser Dosis bedingt ist.

4. VITAMIN K₁ ALS ANTAGONIST VON DICUMAROL

Der Effekt von Vitamin K₁ auf die Dicumarolsterblichkeit bei weissen, männlichen Mäusen wurde so untersucht, dass gleichzeitig Dicumarol und Vitamin K₁ als Ölsuspension entweder subkutan oder mit einer Kanüle in den Magen gegeben wurde. Es wurden zwei Vitamin K₁-Gaben verabreicht, nämlich 0.2 und 0.5 mg/g und entsprechend drei Dicumarolgaben, nämlich 0.15, 0.2 und 0.25 mg/g. In den früheren Untersuchungen hatte die Vitamin K₁-Gabe 2 mg/g bei den Mäusen zu keinen Todesfällen geführt.

Das Grundmaterial geht aus den Tabellen 15 und 16 hervor. Man sieht, dass Vitamin K₁ in gewisser Masse die Dicumarolsterblichkeit herabmindert, aber der Unterschied ist bei einer Vitamin K₁-Gabe von 0.02 mg/g nicht sehr deutlich. Eine sorgfältigere statistische Behandlung ist notwendig.

TABELLE 15

EINFLUSS VON VITAMIN K₁ AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄUSEMÄNNCHEN

Dicumarol und Vitamin K₁ als Olivenölsuspension subkutan verabreicht

Dicumarolgabe mg/g	Dicumarolgruppe			Dicumarol- und Vitamin K ₁ -Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben An- zahl	%	Mäuse Zus.	Gestorben An- zahl	%	Mäuse Zus.	Gestorben An- zahl	%
0.15	14	4	27	25	—	—	25	4	16
0.2	49	23	47	20	7	35	20	1	5
0.25	25	19	76	25	14	56	25	4	16

TABELLE 16

EINFLUSS VON VITAMIN K₁ AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄUSEMÄNNCHENDicumarol und Vitamin K₁ als Olivenölsuspension mit einer Kanüle in den Magen gegeben

Dicumarolgabe mg/g	Dicumarolgruppe			Dicumarol- und Vitamin K ₁ -Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.15	30	4	13	20	—	—	20	—	—
0.2	37	17	46	20	4	20	26	1	4
0.25	33	24	73	30	8	27	20	8	40

Statistische Behandlung χ^2 -Test.*Vitamin K₁ und Dicumarol subkutan verabreicht*

Vereinigt man die Versuchsreihen, bei denen die Tiere 0.2 mg/g Vitamin K₁ und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol erhalten hatten, ergibt sich

$$\chi^2_{Y_{123}} = 7.00 \quad f = 3 \quad 0.05 < P < 0.1$$

Obwohl also Vitamin K₁ die Sterblichkeit herabminderte, so kann der Unterschied doch nicht als signifikant gelten.

Vereinigt man diejenigen Versuchsserien, wo den Tieren 0.5 mg/g Vitamin K₁ und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol verabreicht wurde, so ergibt sich

$$\chi^2_{Y_{123}} = 25.29 \quad f = 3 \quad P < 0.001$$

Die Vitamin K₁-Dosis 0.5 mg/g verminderte sehr signifikant die Dicumarolsterblichkeit bei weissen Mäusen.

Vitamin K₁ und Dicumarol per os verabreicht

Vereinigt man die Versuchsserien, bei denen 0.2 mg/g Vitamin K₁ und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol verabreicht wurden, so erhält man

$$\chi^2_{Y_{123}} = 15.65 \quad f = 3 \quad 0.001 < P < 0.01$$

Die Vitamin K₁-Gabe 0.2 mg/g verminderte signifikant die Sterblichkeit der männlichen Mäuse.

Vereinigt man diejenigen Versuchsserien, wo die Tiere 0.5 mg/g Vitamin K₁ und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol bekommen hatten, so ergibt sich

$$\chi^2_{y_{133}} = 16.94 \quad f = 3 \quad P < 0.001$$

Die Vitamin K₁-Gabe von 0.5 mg/g senkte sehr signifikant die Sterblichkeit der weissen Mäusemännchen.

Es kann als statistisch erwiesen gelten, dass Vitamin K₁ als Antagonist von Dicumarol fungiert und die Dicumarolsterblichkeit bei Mäusen herabsetzt. Grosse Vitamin K₁-Gaben, etwa das Doppelte von der Dicumaroldosis, waren wirksamer als Gaben, die ungefähr von der gleichen Grössenklasse waren wie die Dicumarolgaben.

5. VITAMIN K₁ ALS ANTAGONIST VON PHENYLINDANDION

Die Wirkung von Vitamin K₁ auf die Phenylindandionsterblichkeit weisser Mäusemännchen wurde untersucht, indem gleichzeitig Phenylindandion und Vitamin K₁ als Ölsuspension entweder subkutan oder mit der Kanüle in den Magen verabfolgt wurde. Bei den Versuchen wurden zwei Vitamin K₁-Gaben verabreicht, nämlich 0.2 und 0.5 mg/g, sowie drei verschiedene Phenylindandiongaben, die aus der Tabelle ersichtlich sind.

Das Grundmaterial geht aus den Tabellen 17 und 18 hervor.

TABELLE 17

EINFLUSS VON VITAMIN K₁ AUF DIE PHENYLINDANDIONSTERBLICHKEIT WEISSER MÄUSEMÄNNCHEN

Phenylindandion und Vitamin K₁ als feinverteilte Olivenölsuspension subkutan verabreicht

Phenylindandiongabe mg/g	Phenylindandion- gruppe			Phenylindandion- und Vitamin K ₁ - Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.11	30	7	23	23	4	17	30	4	13
0.12	35	12	34	20	3	15	20	3	15
0.14	30	19	60	20	6	30	30	12	40

TABELLE 18

EINFLUSS VON VITAMIN K₁ AUF DIE PHENYLINDANDIONSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN MÄUSEMÄNNCHENPhenylindandion und Vitamin K₁ als feinverteilte Olivenölsuspension mit einer Kanüle in den Magen gegeben

Phenylindandiongabe mg/g	Phenylindandion- gruppe			Phenylindandion- und Vitamin K ₁ - Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.2	20	3	15	24	2	8	25	—	—
0.3	28	14	50	25	10	40	20	7	35
0.4	28	18	64	25	13	52	25	—	—

Statistische Behandlung χ^2 -Test.*Vitamin K₁ und Phenylindandion subkutan verabreicht*

Vereinigt man die Versuchsserien, in denen die Tiere 0.2 mg/g Vitamin K₁ und 0.11, 0.12 sowie 0.14 mg/g Phenylindandion erhalten hatten, so ergibt sich

$$\chi^2_{Y_{123}} = 5.62 \quad f = 3 \quad P > 0.1$$

Der festgestellte Unterschied ist nicht signifikant.

Vereinigt man diejenigen Versuche, wo den Tieren 0.5 mg/g Vitamin K₁ und 0.11, 0.12 sowie 0.14 mg/g Phenylindandion verabfolgt worden war, kommt man zu folgendem Resultat:

$$\chi^2_{Y_{123}} = 4.36 \quad f = 3 \quad P > 0.1$$

Es lässt sich kein statistisch signifikanter Unterschied feststellen.

Vitamin K₁ und Phenylindandion per os verabreicht

Vereinigt man die Versuchsserien, bei denen die Tiere 0.2 mg/g Vitamin K₁ und 0.2, 0.3 sowie 0.4 mg/g Phenylindandion per os bekommen hatten, so erhält man

$$\chi^2_{Y_{123}} = 0.55 \quad f = 3 \quad P > 0.1$$

Es lässt sich kein statistisch signifikanter Unterschied feststellen.

Wenn man diejenigen Versuchsserien zusammennimmt, bei denen die Tiere 0.5 mg/g Vitamin K₁ und 0.2, 0.3 sowie 0.4 mg/g Phenylindandion per os erhalten hatten, so ergibt sich

$$\chi^2_{Y_{123}} = 24.06 \quad f = 3 \quad P < 0.001$$

Der Unterschied ist statistisch sehr signifikant, und demgemäss vermindert eine Gabe von 0.5 mg/g Vitamin K₁ per os die Phenylindandionsterblichkeit bei weissen Mäusemännchen. Mit der entsprechenden subkutanen Dosis sowie mit der Gabe 0.2 mg/g konnte kein signifikanter antagonistischer Effekt erzielt werden.

6. VITAMIN K₁-OXYD ALS ANTAGONIST VON DICUMAROL

Die Wirkung von Vitamin K₁-Oxyd auf die Dicumarolsterblichkeit bei weissen, männlichen Mäusen wurde untersucht, indem gleichzeitig Dicumarol und Vitamin K₁-Oxyd als Ölsuspension entweder subkutan oder mit einer Kanüle in den Magen gegeben wurde. Es war beabsichtigt, den Effekt von Vitamin K₁-Oxyd auf mindestens drei verschiedene Dicumarol- und Phenylindandiongaben zu untersuchen, so wie auch die Wirkung von Menadion und Vitamin K₁ untersucht worden war, ich konnte aber nicht genügend Vitamin K₁-Oxyd bekommen. In den früheren Untersuchungen hatte die Vitamin K₁-Oxyd-Gabe 2 mg/g bei den Mäusen zu keinen Todesfälle geführt.

Das Grundmaterial geht aus den Tabellen 19 und 20 hervor.

TABELLE 19

EINFLUSS VON VITAMIN K₁-OXYD AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN, MÄNNLICHEN MÄUSEN

Vitamin K₁-Oxyd und Dicumarol als feinverteilte Olivenölsuspension subkutan verabreicht

Dicumarolgabe mg/g	Dicumarolgruppe			Dicumarol- und Vitamin K ₁ -Oxyd- Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Oxyd-Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.15	14	4	27	25	5	20	25	—	—
0.2	49	23	47	25	12	48	30	11	36
0.25	25	19	76	25	17	68	30	17	56

TABELLE 20

EINFLUSS VON VITAMIN K₁-OXYD AUF DIE DICUMAROLSTERBLICHKEIT BEI WEISSEN, MÄNNLICHEN MÄUSENVitamin K₁-Oxyd und Dicumarol mit einer Kanüle in den Magen gegeben

Dicumarolgabe mg/g	Dicumarolgruppe			Dicumarol- und Vitamin K ₁ -Oxyd- Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Oxyd-Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.2	37	17	46	20	6	30	20	4	20
0.25	33	24	73	20	11	55	20	5	25

Statistische Behandlung χ^2 -Test.*Vitamin K₁-Oxyd und Dicumarol subkutan verabreicht*

Nimmt man die Versuchsserien zusammen, in denen die Tiere 0.2 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol erhalten haben, so ergibt sich

$$\chi^2_{Y_{123}} = 0.18 \quad f = 3 \quad P > 0.1$$

Es lässt sich also kein signifikanter Unterschied feststellen.

Vereinigt man diejenigen Versuchsserien, wo den Tieren 0.5 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.15, 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol verabreicht worden war, so erhält man folgendes Resultat:

$$\chi^2_{Y_{123}} = 7.08 \quad f = 3 \quad 0.05 < P < 0.1$$

Obwohl Vitamin K₁-Oxyd die Sterblichkeit verminderte, so war der Unterschied doch nicht signifikant.

Vitamin K₁-Oxyd und Dicumarol per os verabreicht

Vereinigt man die Versuchsserien, bei denen die Tiere 0.2 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol bekommen hatten, so resultiert

$$\chi^2_{Y_{12}} = 1.83 \quad f = 2 \quad P > 0.1$$

Mit der Vitamin K₁-Dosis 0.2 mg/g lässt sich kein signifikanter Unterschied wahrnehmen.

Wenn man diejenigen Versuchsserien zusammennimmt, wo den Tieren 0.5 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.2 sowie 0.25 mg/g Dicumarol verabfolgt worden war, so kommt man zu folgendem Ergebnis

$$\chi^2_{y_{12}} = 12.32 \quad f = 2 \quad 0.001 < P < 0.01$$

Nur mit der Dosis 0.5 mg/g Vitamin K₁-Oxyd per os konnte eine signifikante Minderung der Dicumarolsterblichkeit bei den weissen Mäusen erzielt werden.

7. VITAMIN K₁-OXYD ALS ANTAGONIST VON PHENYLINDANDION

TABELLE 21

EINFLUSS VON VITAMIN K₁-OXYD AUF DIE PHENYLINDANDIONSTERBLICHKEIT
BEI WEISSEN MÄNNLICHEN MÄUSEN

Vitamin K₁-Oxyd und Phenylindandion als feinverteilte Olivenölsuspension
subkutan verabreicht

Phenylindandiongabe mg/g	Phenylindandion- gruppe			Phenylindandion- und Vitamin K ₁ - Oxyd-Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Oxyd-Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.11	30	7	23	20	5	25	20	4	20
0.14	30	19	60	31	20	64	32	16	50

TABELLE 22

EINFLUSS VON VITAMIN K₁-OXYD AUF DIE PHENYLINDANDIONSTERBLICHKEIT
BEI WEISSEN, MÄNNLICHEN MÄUSEN

Vitamin K₁-Oxyd und Phenylindandion als feinverteilte Olivenölsuspension
mit einer Kanüle in den Magen gegeben

Phenylindandiongabe mg/g	Phenylindandion- gruppe			Phenylindandion- und Vitamin K ₁ - Oxyd-Gruppen					
				Vitamin K ₁ -Oxyd-Gabe					
				0.2 mg/g			0.5 mg/g		
	Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben		Mäuse Zus.	Gestorben	
		An- zahl	%		An- zahl	%		An- zahl	%
0.3	28	14	50	23	4	17	25	6	24
0.4	28	18	64	10	3	30	15	4	27

Der Effekt von Vitamin K₁-Oxyd auf die Phenylindandionsterblichkeit bei weissen männlichen Mäusen wurde untersucht, indem den Versuchstieren gleichzeitig Phenylindandion und Vitamin K₁-Oxyd als Ölsuspension entweder subkutan oder mit einer Kanüle in den Magen gegeben wurde. Das Grundmaterial ist in den Tabellen 21 und 22 zusammengestellt.

Statistische Behandlung

χ^2 -Test.

Vitamin K₁-Oxyd und Phenylindandion subkutan verabreicht

Wenn man die Versuchsreihen zusammennimmt, in denen die Tiere 0.2 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.11 sowie 0.14 mg/g Phenylindandion bekommen haben, so ergibt sich

$$\chi^2_{Y_{12}} = 0.07 \quad f = 2 \quad P > 0.1$$

Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Vereinigt man diejenigen Versuchsserien, wo den Tieren 0.4 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.11 sowie 0.14 mg/g Phenylindandion verabfolgt worden war, erhält man folgendes Resultat

$$\chi^2_{Y_{12}} = 0.65 \quad f = 2 \quad P > 0.1$$

Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Vitamin K₁-Oxyd und Phenylindandion per os verabreicht

Nimmt man die Versuchsserien zusammen, in denen die Tiere 0.2 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.3 sowie 0.4 mg/g Phenylindandion erhalten hatten, so kommt man zu folgendem Ergebnis

$$\chi^2_{Y_{12}} = 6.79 \quad f = 2 \quad 0.02 < P < 0.05$$

Der Unterschied ist fast signifikant.

Wenn man wiederum diejenigen Versuchsserien vereinigt, wo den Tieren 0.5 mg/g Vitamin K₁-Oxyd und 0.3 sowie 0.4 mg/g Phenylindandion verabfolgt worden war, so erhält man

$$\chi^2_{Y_{12}} = 6.90 \quad f = 2 \quad 0.02 < P < 0.05$$

Der Unterschied kann als fast signifikant gelten.

Vitamin K₁-Oxyd wirkt antagonistisch auf die Phenylindandionsterblichkeit ein, obwohl der ermittelte Unterschied nur als fast signifikant gelten kann.

V. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Wenn man die Entwicklung der Antikoagulanstherapie betrachtet, so muss man zugeben, dass seit der Auffindung des Heparins und Dicumarols bezüglich der Antikoagulantien keine wesentlichen Fortschritte mehr gemacht worden sind. Mit umso mehr Genugtuung stellt man fest, dass der Mechanismus der Blutgerinnung weiter aufgeklärt worden ist, denn seine genaue Kenntnis bildet die Grundlage für die Erforschung der Antikoagulantien und für die Behandlung der thromboembolischen Krankheiten. Von unseren heutigen Antikoagulantien erfüllt aber kein einziges auch nur einigermaßen die an ein ideales Antikoagulans zu stellenden Forderungen.

Obschon dank der Antikoagulansbehandlung die Prognose der thromboembolischen Zustände weitgehend gebessert werden konnte, so fallen bei der Durchsicht der klinischen Materialien doch zwei Umstände ins Auge: 1) Die Therapie ist nicht durchweg effektiv, weil in fast jedem Material neue thromboembolische Komplikationen auftreten. 2) Blutungen kommen bei den Patienten immer noch fast im gleichen Verhältnis vor wie auch in der Anfangszeit der Antikoagulansbehandlung. Quick (133) ist auch der Ansicht, dass die Blutungen nicht allein durch den niedrigen Prothrombinspiegel zustandekommen, sondern mit einem grösseren Problem zusammenhängen, das nicht bloss durch Verbesserung der Bestimmungsmethoden der Blutgerinnungsfaktoren gelöst werden kann.

Offenbar spielen auch die allgemeintoxischen Eigenschaften der Antikoagulantien, und nicht nur ihre blutgerinnungshemmende Wirkung bei der Entstehung der Blutungen eine Rolle. Hierfür sprechen u.a. die Untersuchungen über die Veränderung der Kapillarpermeabilität.

Aber selbst wenn ein ideales Antikoagulans gefunden würde,

so müssten wir trotzdem effektive, raschwirkende Antagonisten haben, denn es kann ja immer beispielsweise wegen eines nicht diagnostizierten Ulkus oder blutenden Tumors zu Blutungen kommen, oder die Gerinnungsfähigkeit des Blutes muss wegen eines Traumas, einer Operation oder aus sonstigen Gründen wiederhergestellt werden. Alle heutzutage empfohlenen Antagonisten der synthetischen Antikoagulantien sind schwach. Überprüft man die zahlreichen Publikationen von Todesfällen und schweren Blutungen, so muss man feststellen, dass auch in denjenigen Fällen, in denen der Patient mit dem Leben davongekommen ist, oft Bluttransfusionen und Vitamin K-Präparate eine Woche lang oder zwei gegeben werden mussten, und man kann sich des Argwohns nicht erwehren, ob die Vitamin K-Präparate überhaupt und inwieweit wirksam gewesen sind, oder ob der Effekt des synthetischen Antikoagulans' vielleicht von selbst vorübergegangen ist.

Manche frühere Untersuchungen sprechen dafür, dass das Dicumarol mehrere Wirkungskomponenten hat. Bei Mäusen sind nach der letalen, intravenösen Dicumarolgabe klonische Krämpfe beobachtet worden (140), und bei Hunden nach intravenöser Dicumarolverabreichung Kreislaufkollaps ohne nachweisbare Hypoprothrombinaemie. Bei Ratten ist Gefässdilatation in den Eingeweiden festgestellt worden, bei Kaninchen hat man Hyperglykaemie sowie bei Hunden und Ratten Beschleunigung des Stoffwechsels und Steigerung der Rektaltemperatur regelmässig unmittelbar nach der letalen Dicumarolgabe wahrgenommen (166).

Meine Tierversuche mit Mäusen haben gezeigt, dass die von den synthetischen Antikoagulantien verursachte Sterblichkeit in zwei Teile zerfällt, nämlich die primäre Mortalität der ersten 24 Stunden sowie die sekundäre Blutungssterblichkeit, die im Laufe von etwa 3—6 Tagen eintrat. Bei kleinen Dosen war die sekundäre Blutungssterblichkeit relativ gross, während wiederum bei grossen Gaben die primäre Mortalität der ersten 24 Stunden, die ohne Blutungen einherging, im Vordergrund stand. Die Untersuchung zeigt, dass die synthetischen Antikoagulantien eine eindeutige, primäre Allgemeintoxizität sowie eine durch die blutgerinnungshemmende Wirkung bedingte, sekundäre Toxizität besitzen.

Der Effekt der Substanzen war bei subkutaner oder peroraler Verabreichung etwas verschieden. Beim Dicumarol und Thrombaton war die DL 50 bei subkutaner und peroraler Applikation gleich,

aber beim Thromexan, Marcoumar und Phenylindandion war die DL 50 per os signifikant grösser als die entsprechende subkutane Dose, und beim Cyclocumarol war die entsprechende Gabe per os das Zehnfache. Makroskopische Blutungen kamen hauptsächlich im Gedärm vor, oftmals auch aus Maul und Nase, und nicht selten traten Blutungen auch im Bereich des Brustkorbs auf.

In früheren Publikationen wird häufig über sog. Antikoagulans-resistenz berichtet, worunter Fälle verstanden werden, die nicht zufriedenstellend auf irgendein synthetisches Antikoagulans reagieren. Man hat die Erscheinung nicht näher aufzuklären versucht. Es ist jedoch beobachtet worden, dass derartige Patienten ganz gut auf ein anderes Antikoagulans ansprechen können. Bei meinen Untersuchungen hat sich herausgestellt, dass Dicumarolpräparate, die nach den allgemeinüblichen chemischen Bestimmungsverfahren der Pharmakopöen völlig einwandfrei sein müssten, hinsichtlich ihres biologischen Effekts sehr signifikant voneinander abweichen können, was sich sowohl klinisch als auch bei den mit Mäusen durchgeführten Toxizitätsversuchen nachweisen liess. Die Ursache für die Dicumarolresistenz war in diesen Fällen die schwache biologische Wirksamkeit des Präparats. Der Austausch des Antikoagulans' gegen Dicumarol einer anderen Firma, Thromexan oder Phenylindandion führte zu dem erwünschten klinischen Effekt. Die Untersuchung weist darauf hin, dass die chemischen Bestimmungsmethoden der Pharmakopöen in Bezug auf das Dicumarol nicht unbedingt zuverlässig sind, und dass auch die Qualitätskontrolle der synthetischen Antikoagulantien noch manches zu wünschen übrig lässt.

In der früheren Literatur wird nichts darüber berichtet, ob die Geschlechter in verschiedener Weise auf die synthetischen Antikoagulantien reagieren (150). Aus physiologischen Gründen ist das weibliche Geschlecht mehr Blutungen ausgesetzt als das männliche, und es wäre daher gar nicht verwunderlich, wenn der Blutgerinnungsmechanismus beim Weibe besser gesichert wäre als beim Mann. Nach Thordarson und Adams kann während der Gravidität die Prothrombinkonzentration im Blute um mehrere 100% über die Norm ansteigen (161). Sie erklären sich dadurch die Thromboseeigung vor und knapp nach der Geburt. Die auslösende Substanz ist allerdings nicht bekannt. Manche frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Oestrogene die natürliche Blutgerinnung

bes
wo
Fe
lich
sch
Un
sigh
lich
det
die
Ma
geg
Aus
in
abe
infa
lere
das
wei

kat
Gar
Die
Exp
sich
war
blu
wo
Ute

etw
von
ger
erst
erst
das
erk

Ant

beschleunigen (74, 75, 82, 94, 109). Andererseits ist festgestellt worden, dass viele Cumarolderivate Oestrogenwirkung besitzen. Ferner hat man beobachtet, dass säugende Tiere gewöhnlich ziemlich resistent gegen Dicumarol sind, und das laktogene Hormon scheint gegen die genannten Substanzen zu schützen (53). Meine Untersuchungen haben ergeben, dass die weiblichen Mäuse sehr signifikant grössere Antikoagulansgaben vertragen als die männlichen. Bei kastrierten Mäusemännchen und -weibchen verschwindet dieser Unterschied, woraus sich schliessen lassen dürfte, dass die Geschlechtsdrüsen die Dicumarolsterblichkeit bei den weissen Maus beeinflussen. Als den kastrierten Mäusemännchen Follikulin gegeben wurde, sank die Dicumarolsterblichkeit signifikant ab. Aus dem kleinen klinischen Material ergab sich kein Unterschied in der Dicumaroldosierung zwischen den Geschlechtern, es muss aber in Betracht gezogen werden, dass das Krankengut aus Herzinfarktpatienten der Medizinischen Klinik bestand, und das mittlere Alter der Frauen schon über 55 Jahre betrug, m.a.W. die Frauen das fertile Alter schon überschritten hatten, so dass die Frage noch weitere Untersuchungen erfordert.

Die Schwangerschaft gilt im allgemeinen als eine Kontraindikation gegen die Anwendung von synthetischen Antikoagulantien. Ganz einig sind sich die Forscher hierüber allerdings nicht (110). Die Tierversuche ermutigen aber doch nicht zu weiteren klinischen Experimenten beim Menschen. Bei meinen eigenen Versuchen ergab sich, dass die trächtigen Mäuse sehr empfindlich für Dicumarol waren, und alle gestorbenen Mäuse hatten makroskopische Uterusblutungen, so dass sie Resultate die Auffassung zu stützen scheinen, wonach das Dicumarol in der Schwangerschaft die Gefahr von Uterusblutungen erhöht.

In meinen Untersuchungen unterschieden sich Jungmäuse von etwa 8—10 g Gewicht hinsichtlich der Gesamtsterblichkeit nicht von den ausgewachsenen Mäusen, aber die vom Dicumarol hervorgerufenen Blutungen traten bei den ersteren bereits im Laufe der ersten 24 Stunden auf, bei den ausgewachsenen Tieren hingegen erst nach ca. 3—6 Tagen. Schon Schofield (148) hatte beobachtet, dass die neugeborenen Kälber leichter an der »Sweet clover disease« erkrankten.

Die K-Vitamine werden als Antagonisten der synthetischen Antikoagulantien empfohlen. Bezüglich ihrer Wirksamkeit und

demgemässer Rangordnung scheint man sich nicht ganz einig zu sein. Bei Tierversuchen und klinischen Untersuchungen hat sich erwiesen, dass in leichten Fällen von Überdosierung synthetischer Antikoagulantien die niedrige Prothrombinkonzentration mit Hilfe von Vitamin K auf die Norm gebracht werden konnte. Die grösste Schwierigkeit besteht in diesen Fällen darin, dass nicht im Voraus berechnet werden kann, wieviel Vitamin K erforderlich ist, um den niedrigen Prothrombingehalt auf den gewünschten therapeutischen Stand zu bringen. Nicht selten steigt er zuviel an, und die Behandlung mit synthetischen Antikoagulantien bleibt dann tagelang wirkungslos, so dass zum Heparin übergegangen werden muss. Betrachtet man wiederum die von den synthetischen Antikoagulantien hervorgerufenen schweren Blutungen und tödlich verlaufenen Fälle, so muss man zugeben, dass die Wirkung der Vitamin K-Präparate unzureichend gewesen ist. Auch bei denjenigen Patienten, die diese ernste Situation überstanden haben, sind wiederholte Bluttransfusionen vonnöten gewesen, und Vitamin K-Präparate mussten in grossen Dosen eine bis zwei Wochen lang verabreicht werden, ehe die Prothrombinwerte wieder die Norm erreichten und die Blutungen sistierten.

In meinen Untersuchungen habe ich die Wirkung von Menadion, Vitamin K₁ und Vitamin K₁-Oxyd bei Mäusen auf durch grosse Antikoagulansgaben hervorgerufene, tödliche Vergiftungen verglichen, und zwar sowohl als Antagonisten von Dicumarol wie auch von Phenylindandion. Alle die genannten Präparate verminderten die Gesamtsterblichkeit der Mäuse, und der Effekt als Antagonist von Dicumarol war etwas deutlicher als die antagonistische Wirkung auf Phenylindandion. Keines von den erwähnten Vitamin K-Präparaten war besonders gut, aber am meisten statistisch signifikante Resultate wurden mit Vitamin K₁ erzielt, danach mit Vitamin K₁-Oxyd, und am schwächsten war in diesen Versuchsverhältnissen das Menadion. Der Effekt war besser bei peroraler als bei subkutaner Verabreichung. Die Wirkung äusserte sich hauptsächlich als eine Herabminderung der sekundären Blutungssterblichkeit, während die primäre Mortalität ziemlich unverändert blieb. Obwohl Vitamin K gleichzeitig mit dem Antikoagulans verabfolgt wurde, was in der klinischen Praxis kaum vorkommen dürfte, so war der Effekt doch wenig zufriedenstellend.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Untersuchung sind Vergleiche über die Toxizität der synthetischen Antikoagulantien Dicumarol, Thromexan, Thrombaton, Cyclocumarol, Marcoumar und Phenylindandion bei weissen Mäusen ausgeführt worden, und ferner wurde die DL 50 dieser Präparate bei diesen Versuchstieren bestimmt. Bei den Mäusen zerfiel die Antikoagulanssterblichkeit deutlich in zwei Komponenten, nämlich die primäre Mortalität der ersten 24 Stunden und die spätere sekundäre Mortalität. Im Laufe der ersten 24 Stunden ging ein Teil von den Versuchstieren an den allgemeintoxischen Wirkungen der Antikoagulantien ohne Blutungen zugrunde, und die sekundäre Mortalität äusserte sich im Laufe von etwa 3—6 Tagen als Blutungssterblichkeit. Mit den kleineren Antikoagulansgaben starben verhältnismässig mehr Versuchstiere an Blutungen und bei den grossen Gaben war die durch allgemeintoxische Wirkungen bedingte primäre Sterblichkeit vorherrschend. Dicumarol und Thrombaton hatten sowohl bei peroraler wie auch subkutaner Applikation den gleichen Effekt. Beim Thromexan, Marcoumar und Phenylindandion hingegen war die DL 50 per os signifikant grösser als subkutan, und beim Cyclocumarol war die entsprechende Dosis per os das Zehnfache.

Die Untersuchungen ergaben, dass die nach den allgemeinüblichen chemischen Bestimmungsmethoden der Pharmakopöen völlig einwandfreien Dicumarolpräparate hinsichtlich ihrer biologischen Wirksamkeit sehr signifikant voneinander abweichen können, was sowohl klinisch als bei Toxizitätsversuchen an Mäusen festgestellt werden konnte. Eine Ursache für die sog. Dicumarolresistenz kann auch die unzureichende biologische Wirksamkeit des Präparates sein.

Das Geschlecht hat einen sehr signifikanten Einfluss auf die Dicumarol- und Phenylindandionsterblichkeit bei weissen Mäusen, wenn das Antikoagulans als grosse Einzeldosis verabreicht wird. Das Resultat der Untersuchung zeigt sehr signifikant, dass die weiblichen Mäuse grössere Antikoagulansgaben vertragen als die männlichen. Wenn die Mäusemännchen und -weibchen kastriert werden, verschwindet dieser Unterschied zwischen den Geschlech-

tern, was darauf schliessen lässt, dass die Geschlechtsdrüsen bei der Dicumarolsterblichkeit der weissen Maus eine Rolle spielen. Wenn den männlichen Mäusen Follikulin und den weiblichen Testosteron verabreicht wurde, so wurde in diesen Versuchsumständen keine signifikante Wirkung erzielt, wenn aber den kastrierten Mäusemännchen Follikulin gegeben wurde, fiel die Dicumarolsterblichkeit signifikant ab. Wenn den kastrierten Mäuseweibchen Testosteron verabfolgt wurde, so konnte kein signifikanter Effekt erreicht werden.

Auch der Einfluss der Gravidität auf die Dicumarolsterblichkeit wurde untersucht, wobei sich herausstellte, dass die trächtigen Mäuse das Dicumarol sehr signifikant schlechter vertrugen als die nicht graviden Tiere. Da die trächtigen, gestorbenen Mäuse alle grosse Uterusblutungen hatten, dürften die Versuche die Auffassung bestätigen, wonach in der Schwangerschaft das Dicumarol eine vermehrte Uterusblutungsgefahr mit sich bringt.

Die Dicumarolsterblichkeit von c. 20—25 Tage alten und etwa 8—10 g wiegenden Mäusejungen unterschied sich nicht signifikant von derjenigen der ausgewachsenen Mäuse, aber ein signifikanter Unterschied bestand im Reagieren der beiden Geschlechter schon bei Tieren in diesem Alter. Die Blutungssterblichkeit bei den Jungmäusen und bei den ausgewachsenen Tieren war ungefähr von der gleichen Grössenklasse, aber von den Jungmäusen starben viele an Blutungen bereits im Laufe der ersten 24 Stunden, während die ausgewachsenen Mäuse erst im Laufe von 3—6 Tagen nach der Antikoagulansverabreichung zugrunde gingen.

Menadion, Vitamin K_1 und Vitamin K_1 -Oxyd wurden als Antagonisten von Dicumarol und Phenylindandion miteinander verglichen. Alle die genannten Vitamin K-Präparate verminderten die Gesamtsterblichkeit der Mäuse, und der Effekt als Antagonist von Dicumarol war etwas deutlicher als die entsprechende Wirkung auf Phenylindandion. Keines von den erwähnten Vitamin K-Präparaten war gut, aber am meisten statistisch signifikante Resultate wurden mit Vitamin K_1 und danach mit Vitamin K_1 -Oxyd erzielt, während Menadion am schwächsten war. Die antagonistische Wirkung der K-Vitamine war bei peroraler Verabreichung besser als bei subkutaner. Der Effekt äusserte sich hauptsächlich als eine Abnahme der sekundären Blutungssterblichkeit, während die primäre Antikoagulanssterblichkeit ziemlich unverändert blieb.

VII. SUMMARY

An investigation is presented in which comparisons of the toxicity of dicumarol, Tromexan, Thrombaton, cyclocumarol, Marcoumarin and phenylindandione and determinations of LD 50 were carried out on white mice. The mortality from anticoagulants was clearly distributed into two components, *i.e.*, primary mortality during the first 24 hours and secondary mortality later during the experiment. During the first day a part of the animals died of the general toxic effects of anticoagulants and without haemorrhage. The secondary mortality from haemorrhage occurred on about the third to the sixth day. Relatively the greater proportion of the deaths following the smaller doses of anticoagulants occurred from haemorrhage, whereas primary mortality from the general toxic effects were predominant after large doses. The effect of peroral and subcutaneous administrations of dicumarol and Thrombaton was similar. For Tromexan, Marcoumarin and phenylindandione the peroral LD 50 was significantly larger than the subcutaneous dose, and the LD 50 of cyclocumarol per os was ten-fold as compared to subcutaneous administration.

Highly significant variations were found in the biological effect of dicumarol preparations which were fully serviceable when examined by the commonly employed chemical methods of determination presented in pharmacopoeias. These variations were observed both in clinical work and in toxicity experiments on mice. The reason for the so-called dicumarol resistance may also be the weak biological effect of the product.

Sex had a highly significant influence on mortality from dicumarol and phenylindandione in white mice when the anticoagulant was administered in a single large dose. The results obtained in the present investigation gave highly significant evidence that female

mice tolerated greater doses than male mice. After the castration of male and female mice the significant sex-linked difference disappeared, which points to the probability that the sex glands influence the death from dicumarol in white mice. No significant effect was obtained from the administration of folliculin to male mice and of testosterone to female mice under the test conditions used, but folliculin given to castrated male mice significantly reduced the mortality from dicumarol. Testosterone given to castrated female mice did not have a significant effect.

When studying the effect of pregnancy on the mortality of white mice from dicumarol it was found that the tolerance of pregnant mice to dicumarol was highly significantly poorer than that of non-pregnant female mice. Since all the dead pregnant mice showed massive uterine haemorrhage, it may be regarded that these experiments confirm the opinion that dicumarol administered during pregnancy increases the danger of uterine haemorrhage.

The mortality from dicumarol of young mice aged about 20–25 days and weighing 8–10 g did not significantly differ from that of adult mice. However, there was a significant difference in the reaction of young male and female mice at already this age. Death from haemorrhage was of the same order of magnitude in young and adult mice, but a large proportion of the young mice died of haemorrhage during the first 24 hours, whereas in adult mice the deaths from haemorrhage did not occur until 3–6 days after the administration of dicumarol.

Comparisons were made of menadione, vitamin K₁ and vitamin K₁ oxide as antagonists of dicumarol and phenylindandione. All the vitamin K preparations used reduced the total mortality of the mice, and their effect as antagonists of dicumarol was somewhat more definite than as antagonists of phenylindandione. None of the vitamin K preparations mentioned was fully good; however, statistically the most significant results were obtained with vitamin K₁, followed by vitamin K₁ oxide, while menadione was found to have the weakest effect. The antagonistic effect of the vitamin K preparations was greater after peroral administration than after subcutaneous administration. The effect appeared chiefly as a reduction in the secondary mortality from haemorrhage, whereas primary mortality due to the anticoagulants was nearly unchanged.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABRAMSON, L.: Svenska Läk.-Tidn. 1943:40:2336.
2. AGGELER, P.: Calif.west.Med. 1946:64:71.
3. ALLEN, E. V.: J. Amer. med. Ass. 1947:134:323.
4. ALLEN, E. V., HINES, E. A., KYALE, W. F. und BARKER, N. W.: Ann. intern. Med. 1947:27:371.
5. ALMQUIST, H. J. und KLOSE, A. A.: J. Amer.chem. Soc. 1939:61:1923.
6. ALMQUIST, H. J. und STOKSTAD, E. L. R.: J. biol. Chem. 1935:111:105.
7. ALMQUIST, H. J. und STOKSTAD, E. L. R.: Nature (Lond.) 1935:136:31.
8. ANSBACHER, S. und FERNHOLZ, E.: J. Amer. chem. Soc. 1939:61:1924.
9. ANSCHÜTZ, R.: Ber. dtsch. chem. Ges. 1903:36:463.
10. BARKER, N. W.: Blood Clotting and Allied Problems, J. E. FLYNN, Ed. Trans. fifth Connf., New York; Josiah Macy Jr. Foundation, 1952.
11. BARKER, N. W., ESTES, E. J. und MANN, F. D.: Proc. Mayo Clin. 1951:26:162.
12. BARKER, N. W., HANSON, H. H. und MANN, F. D.: J. Amer. med. Ass. 1952:148:274.
13. BATTLE, W. D., CAPPS, R. T. und MEYER, O. O.: J. Lab. clin. Med. 1950:35:8.
14. BEAUMONT, J. L. und TARRIT, A.: Sang 1955:26:680.
15. BEHRENS, B.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 1924:103:39.
16. BINKLEY, S. B., MACCORQUODALE, D. W., THAYER, S. A. und DOISY, E. A.: J. biol. Chem. 1939:103:219.
17. BINGHAM, J. B., MEYER, O. O. und POHLE, F. J.: Amer. J. Med. Sci. 1941:202:563.
18. BJERKELUND, C. J.: T. norske Lægeforen. 1950:70:41.
19. BJERKELUND, C. J.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 1950:2:83.
20. BJERKELUND, C. J.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 1951:3:115.
21. BLAUSTEIN, U. A.: Blood Clotting and Allied Problems, J. E. Flynn, Ed. Trans. third Conf., New York; Josiah Macy Jr. Foundation, 1950.
22. BLAUSTEIN, A. U., GROCE, J. J., ALBERIAN, M. und RICHEY, N.: Circulation 1950:1:1195.
23. BOYD, E. J. und WARNER, E. D.: J. Lab. clin. Med. 1948:33:1431.
24. BRUZELIUS, S.: Acta chir. scand. 1945:92:Suppl. 100.

25. BURKE, G. E. und WRIGHT, I. S.: *Circulation* 1951:3:164.
26. BUTLER, J. J. und JAMES, D. F.: *Ann. intern. Med.* 1950:32:731.
27. CAHAN, A.: *New. Engl. J. Med.* 1943:228:820.
28. CAMPBELL, H. A. und LINK, K. P.: *J. biol. Chem.* 1941:138:21.
29. CAMPBELL, H. A., ROBERTS, W. L., SMITH, W. K. und LINK, K. P.:
J. biol. Chem. 1940:136:47.
30. CAMPBELL, H. A., SMITH, W. K., ROBERTS, W. L. und LINK, K. P.:
J. biol. Chem. 1941:138:1.
31. COLLENTINE, G. E. und QUICK, A. J.: *Amer. J. Med. Sci.* 1951:222:7.
32. CRAWFORD, T. und NASSIM, J. R.: *Lancet* 1944:247:404.
33. CROMER, H. E. und BARKER, N. W.: *Proc. Mayo Clin.* 1941:19:217.
34. DALGAAR, O. Z.: *Nord. Med.* 1953:49:121.
35. DAM, H.: *Nature (Lond.)* 1935:135:652.
36. DAM, H., GLAVIND, J. und KARRER, P.: *Helv. chim. Acta* 1940:23:224.
37. DAVIDSON, C. S. und MACDONALD, H.: *New Engl. J. Med.* 1943:229:
353.
38. DAVIS, W. A., FRANK, H. A., HURWITZ, A. und SELIGMAN, A. M.:
Arch. Surg. (Chicago) 1943:46:296.
39. DELLA SANTA, R.: *Schweiz. med. Wschr.* 1949:79:195.
40. DEUTSCH, E.: *Schweiz. med. Wschr.* 1949:79:1010.
41. DIEM, E.: *Cardiologia (Basel)* 1946:10:25.
42. DOISY, E. A., BINKLEY, S. B., THAYER, S. A. und MCKEE, R. W.:
Science 1940:91:58.
43. DRAPER, A. J.: *J. Amer. med. Ass.* 1948:136:171.
44. DUFF, I. F. und SHULL, W. H.: *J. Amer. med. Ass.* 1949:139:762.
45. EAST, E. N. und BEAMISH, R. E.: *Canad. med. Ass. J.* 1957:77:1028.
46. EMMET, A. D., KAMM, O. und SHARP, E. A.: *J. biol. Chem.* 1940:133:
285.
47. ENSOR, R. E. und PETERS, H. R.: *Ann. intern. Med.* 1957:47:731.
48. EVANS, J. A.: *New Engl. J. Med.* 1944:230:131.
49. EVANS und DEE 1948 zit. nach JORPES, E.: (83).
50. FANTL, P. und NANCE, H.: *Med. J. Aust.* 1947:133.
51. FAVRE-GILLY, J. u.a.: *Rev. lyon. Mèd.* 1953:2:17. Zit. nach JORPES, E.:
(83).
52. FIELD, J. B.: *Am. J. Physiol.* 1945:143:238.
53. FIELD, J. B., OVERMAN, R. S. und BAUMANN, C. A.: *Am. J. Physiol.*
1942:137:509.
54. FIESER, L. F.: *Ann. Int. Med.* 1941:15:648.
55. FÄHRAEUS: *Nord. Med.* 1944:23:1283.
56. FLAXMAN, N.: *J. Amer. med. Ass.* 1951:147:377.
57. FLYNN, J. E.: *Blood Clotting and Allied Problems. Use of Vitamin K
in Dicumarol Therapy. General Discussion. Transactions of the
Third Conference, Josiah Macy Jr. Foundation, New York 1950.*
58. FRESenius: *Diss. Bonn* 1902. Zit. nach SCHMID, J.: (147).
60. FRITZ: *Magyar Orvosi Arch.* 1943:5. Zit. nach SCHMID, J.: (147.).
61. FULLER, B. F. und BARKER, N. W.: *Minn. Med.* 1951:34:326.
62. GIANELLA: *Gynaecologia (Basel)* 1949:128:62.

63. GIANELLA, C. V. und v. KAULLA, K. N.: *Experientia* (Basel) 1949:5:125.
64. GOODMAN, H. L.: *Ann. intern. Med.* 1958:48:406.
65. GOODMAN, L. S. und GILMAN, A.: *The pharmacological basis of therapeutics*. Sec. ed. New York, The Macmillan company 1955.
66. GORDON, R. R. und DEAN, T.: *Brit. med. J.* 1955:II:719.
67. GRIPE, R. P.: *New Engl. J. Med.* 1951:245:803.
68. HANSON, H. H., BARKER, N. W. und MANN, F. D.: *Circulation* 1951:4:844.
69. HARTERT, H. und HARTERT, I.: *Klin. Wschr.* 1953:31:852.
70. HOLTEN, C.: *Acta med. scand.* 1951:140:340.
71. HOWELL, W. H.: *Am. J. Physiol.* 1916:40:526.
72. IKAWA, M., STAHMANN, M. A. und LINK, K. P.: *J. Amer. chem. Soc.* 1944:66:902.
73. *J. Amer. med. Ass.* 1950:144:1466.
74. JACOBSON, P.: *A.M.A. Arch. Otolaryng.* 1954:59:523.
75. JACOBSON, P.: *West. J. Surg.* 1955:63:711.
76. JAMES, D. F.: *J. Ga. med. Ass.* 1951:40:8.
77. JAMES, D. F., BENNETT, I. L., SCHEINBERG, P. und BUTLER, J. J.: *Arch. intern. Med.* 1949:83:632.
78. JANSEN, K. F.: *Dikumarin, Experimentelle og kliniske undersøgelser*. Disp. København 1944, Einar Munksgaard, København.
79. JANSEN, K. F. und JENSEN, K. A.: *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 1943:277:66.
80. JAUQUES, B. L., GORDON, E. und LEPP, E.: *Canad. med. Ass. J.* 1950:62:165.
81. JAUQUES, B. L., LEPP, E. und GORDON, E.: *Blood Clotting and Allied Problems*, J. E. FLYNN, Ed. Trans. 3rd Conf., New York; Josiah Macy Jr. Foundation, 1950.
82. JOHNSON, J. F.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 1957:94:92.
83. JORPES, E.: *Trombos och Trombosterapi*, Svenska Tryckeriaktiebolaget, Stockholm 1954.
84. JUBELIER, R. A. und GLUECK, H. J.: *J. Lab. clin. Med.* 1949:34:448.
85. JÜRGENS, R.: *Schweiz. med. Wschr.* 1953:83:471.
86. KABAT, H., STOHLMAN, E. F. und SMITH, M. J.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 1944:80:160.
87. KARRER, P. und GEIGER, A.: *Helv. chim. Acta* 1939:22:945.
88. KAUFMANN, G. und BACHMANN, F.: *Helv. med. Acta* 1958:25:470.
89. v. KAULLA, K. N.: *Klinische Fortschritte auf dem Gebiete der Blutgerinnung*, Monographien der Medizinischen Klinik Heft 7. 1949. Urban & Schwarzenberg/Berlin-München.
90. v. KAULLA, K. N.: *Dtsch. med. Wschr.* 1950:74:1259.
91. v. KAULLA, K. N. und PULVER, R.: *Schweiz. med. Wschr.* 1948:78:806.
92. KEYRILÄINEN, O.: *Nord. Med.* 1958:26:567.
93. KIRKEBY, K.: *Lancet* 1954:267:580.
94. KOCH, H. J. und ESCHER, G. C.: *J. Amer. med. Ass.* 1952:149:1376.

95. KOLLER, F.: *Helv. med. Acta* 1944:11:55.
96. KOLLER, F. und JAKOB, H.: *Schweiz. med. Wschr.* 1953:83:476.
97. KOLLER, F. und PEDRAZZINI, A.: *Schweiz. med. Wschr.* 1947:77:911.
98. KRAUS, A. P., PERLOW, S. und SINGER, K.: *J. Amer. med. Ass.* 1949:139:758.
99. LEE, C. C., TREVOY, L. W., SPINKS, J. W. T. und JAKES, L. B.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 1950:74:151.
100. LEHMANN, J.: *Science* 1942:96:345.
101. LEHMANN, J.: *Svenska Läk.-Tidn.* 1942:39:73.
102. LEHMANN, J.: *Svenska Läk.-Tidn.* 1942:39:1041.
103. LEHMANN, J.: *Lancet* 1943:I:458.
104. LEVAN, J. B.: *Ann. intern. Med.* 1946:25:941.
105. LINK, K. D.: *Harvey Lect.* 1943—1944:39:162. Zit. nach SEEGER, W. H.: (150).
106. LUCIA, S. P.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 1944:56:36.
107. McCARTER, J. C., BINGHAM, J. B. und MEYER, O. O.: *Amer. J. Path.* 1944:20:651.
108. McKEE, R. W., BINKLEY, S. B., MACCORQUODALE, D. W., THAYER, S. A. und DOISY, E. A.: *J. Amer. Chem. Soc.* 1939:61:1295.
109. MENDER, H. C.: *J. Amer. med. Ass.* 1955:159:546.
110. MERZ, W. R. und BREITNER, J.: *Geburtsh. u. Frauenheilk.* 1956:16:426.
111. MEUNIER, P., MENTZER, C. und MOLHO, D.: *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 1947:224:1666.
112. MILLER, R., HARVEY, P. und FINCH, C. A.: *New Engl. J. Med.* 1950:242:211.
113. MILLER, R., WAKES, J. A. und DRUEQUER, J. K.: *Brit. med. J.* 1948:II:904.
114. MORAWIRZ, P.: *Ergeb. Physiol.* 1905:4:307.
115. MORAWITS, P.: 1932. Zit. nach JORPES, E.: (83).
116. NAEGELI, TH. und MATIS, P.: *Medizinische* 1953:31:511.
117. NELSON, C. M., und WASHINGTON, T. B.: *J. Urol. (Baltimore)* 1947:57:396.
118. NEUMAYAR, A.: *Wien. Z. inn. Med.* 1948:29:31.
119. NEUMAYAR, A. und SCHMID, J.: *Schweiz. med. Wschr.* 1948:78:616.
120. NICHOL, E. S.: *J. Flo. med. Ass.* 1948:35:85.
121. NICKERSON, J. N.: *Brit. med. J.* 1958:I:1522.
122. NORRIS, R. F. und MATTHEW, C. B.: *Surg. Gynec. Obstet.* 1941:72:758.
123. OVERMAN, R. S., STAHMANN, M. A., SULLIVAN, W. R., HUEBNER, C. F., CAMPBELL, H. A. und LINK, K. P.: *J. biol. Chem.* 1942:142:941.
124. OVERMAN, R. S., FIELD, J. B., BAUMANN, C. A. und LINK, K. P.: *J. Nutr.* 1942:23:589.
125. OVERMAN, R. S., SORENSON, C. W. und WRIGHT, I. S.: *J. Amer. med. Ass.* 1951:145:393.
126. PEARSON, S. C. und MCKENZIE, R. J.: *J. Amer. med. Ass.* 1958:167:455.

127. PETERSEN, Ø.: Ugeskr. Læg. 1951:113:1709.
128. PETRACEK: Čes. Lék. česk. 1944:83:1204. Zit. nach SCHMID, J. (147).
129. POWERS, J. S.: Ann. intern. Med. 1950:32:146.
130. PULVER, R. und v. KAULLA, K. N.: Schweiz. med. Wchschr. 1948:78:956.
131. QUICK, A. J.: J. biol. Chem. 1936:114.
132. QUICK, A. J.: Am. J. Physiol. 1937:118:260.
133. QUICK, A. J.: J. Amer. med. Ass. 1951:145:427.
134. QUICK, A. J. und COLLENTINE, G. E.: Am. J. Physiol. 1951:164:716.
135. EEINIŠ, Z. und KUBÍK, M.: Schweiz. med. Wschr. 1948:78:785.
136. ROBSON, J. M.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 1936:35:49.
137. RODERICK, L. M.: Am. J. Physiol. 1931:96:413.
138. RODERICK, L. M.: J. Amer. vet. med. Ass. 1929:74:314. Zit. nach RODERICK, L. M.: (137).
139. RODERICK, L. M. und SCHALK, A. F.: Bull. N. D. Agric. Exp. Sta. 1931 Zit. nach RODERICK, L. M.: (137).
140. ROSE, C. L., HARRIS, P. N. und CHEN, K. K.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 1942:50:228.
141. ROSENBLOOM, D. und CRANE, J. J.: J. Amer. med. Ass. 1946:132:924.
142. ROSICKY, Čes. Lék. česk. 1944:83:1200. Zit. nach SCHMID, J.: (147).
143. ROTTER, R. und MEYER, O. O.: J. Lab. clin. Med. 1950:36:981.
144. ROTTER, R. und MEYER, O. O.: J. Amer. med. Ass. 1952:150:1188.
145. SCHEEL, L. D.: Doctoral Dissertation, University of Wisconsin 1949. Zit. nach SEEGER, W. H.: (150).
146. SCHERWIN, J.: Ugeskr. Læg. 1948:110:1160.
147. SCHMID, J.: Die Blutgerinnung in Theorie und Praxis. 1951: Verlag Wilhelm Maudrich, Wien.
148. SCHOFIELD, F. W.: J. Amer. vet. med. Ass. 1924:64:553.
149. SCHÖNHEYDER, F.: Nature (Lond.) 1935:135:653.
150. SEEGER, W. H.: Pharmacol. Rew. 1951:3:278.
151. SHAPIRO, S., REDISH, M. H. und CAMPBELL, H. A.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 1943:52:12.
152. SHAPIRO, S., WEINER, M. und SIMSON, G.: New. Engl. J. Med. 1950:243:775.
153. SHLEVIN, E. L. und LEDERER, M.: Ann. intern. Med. 1944:21:332.
154. SHWARTZMAN, G.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 1948:67:376.
155. SMITH, A.: J. Amer. med. Ass. 1950:144:1466.
156. SOLOMON, C., McNEILE, H. J. und LANGE, R.: J. Lab. clin. Med. 1950:36:19.
157. SOULIER, J. und GUEGUEN, J.: C. R. Soc. Biol. (Paris). 1947:141:1007.
158. SÖDERSTRÖM, H.: Svenska Läk.-Tidn. 1950:47:2748.
159. TAWFIC, A.: Lancet. 1955:269:984.
160. THAYER, S. A., CHENEY, L. C., BINKLEY, S. B., MACCORQUODALE, D. W. und DOISY, E. A.: J. Amer. chem. Soc. 1939:61:1932.
161. THORDARSON, O.: Nature (Lond.) 1940:145:305.
162. THORSEN, G.: Lancet 1947:253:420.
163. THORSEN, R. K.: Acta med. scand. 1957:158:203.

164. TOWNSEND, S. R., FAY, K. J., DOWNING, J. R., LAING, R. und CAMERON, D. G.: Canad. med. Ass. J. 1953:69:149.
165. UNGER, K.: Z. f. Chirurg. 1938:65:2305.
166. WAKIM, K. G., CHEN, K. K. und GATCH, W. D.: Surg. Gynec. Obstet. 1943:76:323.
167. VAN WIEN, A. und VEROF, R.: Acta. clin. belg. 1953:8:618.
168. WOOLLEY, D. W.: Physiol. Rev. 1947:27:308.
169. WRIGHT, I. S.: Blood Clotting and Allied Problems, J. E. FLYNN, Ed. Trans. fifth Conf., New York; Josiah Macy Jr. Foundation, 1952.
170. WRIGHT, J. S.: Ann. intern. Med. 1955:43:942.
171. WRIGHT, L. T. und ROTHMAN, M.: A. M. A. Arch. Surg. 1951:62:23.